



Pedro Filipe Emídio Moraes

Licenciado em Química Aplicada

**Optimização dos parâmetros
cromatográficos em GC/MS e
GCxGC-FID:
Aplicação para a análise
qualitativa e quantitativa de HPAs**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Professor Doutor Marco Gomes da Silva,
FCT-UNL

Co-orientador: Professor Doutor Eduardo Pires Mateus,
FCT-UNL

Presidente: Professora Doutora Paula Cristina de Sérió Branco
Arguente: Doutora Maria Nazaré Parada Figueiredo Sousa Couto Alves
Vogal: Professor Doutor Marco Diogo Richter Gomes da Silva

**Optimização dos parâmetros
cromatográficos em GC/MS e
GCxGC-FID:
Aplicação para a análise
qualitativa e quantitativa de HPAs**

Copyright: Pedro Filipe Emídio Morais
FCT-UNL

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e ao editor.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Professor Marco Gomes da Silva e ao Doutor Eduardo Mateus por toda a orientação, disponibilidade e incansável apoio prestado. Foram bastante úteis nesta etapa da minha vida, fazendo-me sentir que evoluí como aluno, pois tornaram-me muito mais autónomo, devido ao desenvolvimento de sentido crítico e tomada de decisões a que me submeteram ao longo de toda a dissertação.

Um especial obrigado ao meu colega e amigo Davide Mendes, que me ajudou, guiou e aconselhou por inúmeras vezes, para além de todo o apoio técnico prestado, estando presente em várias etapas deste ano lectivo, tanto dentro como fora do laboratório.

Um agradecimento em geral para a Késsia Andrade, Paula Guedes e Sofia Branco, colegas com quem partilhei o laboratório e que me ajudaram directa ou indirectamente durante todo este percurso.

Não esquecendo a Professora Margarida Gonçalves, pelas ideias que trocámos e pelos bons conselhos que me deu num momento crucial da elaboração desta dissertação.

Por fim, e não menos importante, agradeço especialmente à minha mãe, irmã e namorada, que incondicionalmente me deram apoio, força e motivação. Foram as pessoas que estiveram sempre presentes quando a vontade de desistir era maior do que a de lutar, às quais sinto que me tornei no seu orgulho. A elas, devo-lhes tudo.

Índice

Índice.....	I
Resumo.....	V
Abstract	VII
Índice de abreviaturas.....	IX
Índice de figuras	XIII
Índice de tabelas	XV

Capítulo 1 – Introdução..... 1

1.1 – Cromatografia	1
1.2 – Tipos de cromatografia.....	1
1.2.1 – Cromatografia de fluidos supercríticos	1
1.2.2 – Cromatografia líquida	2
1.2.3 – Cromatografia gasosa.....	2
1.3 – Fase estacionária	3
1.4 – Fase móvel	4
1.5 – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente.....	5
1.5.1 – Conjunto de colunas	6
1.5.2 – Capacidade de pico.....	6
1.6 – Modulador	6
1.6.1 – Período de modulação e ciclo de trabalho.....	7
1.6.2 – Tipos de modulação	7
1.6.3 – Wrap-around – efeito envelope	8
1.7 – Tipos de moduladores	9
1.7.1 – Moduladores de válvula	9
1.7.2 – Moduladores térmicos	10
1.8 – Detectores.....	10

1.8.1 – Detector de ionização por chama	11
1.8.2 – Detector de espectrometria de massa	11
1.9 – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	12
1.10 – Limite de detecção	14
1.11 – Limite de Quantificação	14
1.12 – Optimização	15
1.13 – Validação do método.....	16
1.13.1 – Selectividade/Especificidade.....	16
1.13.2 – Linearidade/Faixa de aplicação	16
1.13.3 – Precisão	17
1.13.4 – Exatidão.....	17
1.13.5 – Robustez.....	18
1.14 – Técnicas de ionização em GC/MS	18
1.14.1 – Full-Scan – varrimento total.....	18
1.14.2 – SIM.....	19
1.14.3 – SRM	19
Capítulo 2 – Parte experimental	21
2.1 – Reagentes	21
2.2 – Preparação de soluções.....	21
2.3 – Instrumentação	22
2.4 – Programas de temperatura.....	22
2.5 – Métodos cromatográficos:.....	22
2.5.1 – Bruker Scion SQ 456 GC/MS	22
2.5.2 – Agilent 7890 A.....	23
2.6 – Colunas cromatográficas	23
2.7 – Sistemas cromatográficos – GC/MS	23

Capítulo 3 – Resultados	25
3.1 – Optimização Bruker Scion SQ 456 GC/MS.....	25
3.1.1 – Optimização GC.....	25
3.1.1.1 – Teste de Grob	25
3.1.1.2 – Hidrocarbonetos	26
3.1.1.3 – HPAs	27
3.1.2 – Optimização MS.....	27
3.2 – Validação do método – GC/MS	28
3.2.1 – Branco do sistema	28
3.2.2 – Linearidade / Gama analítica.....	29
3.2.3 – Gama de trabalho / Faixa de aplicação.....	33
3.2.3.1 – Sistema 1	33
3.2.3.2 – Sistema 2	33
3.2.3.3 – Sistema 3	40
3.2.4 – LOD / LOQ	45
3.2.4.1 – Sistema 2	45
3.2.4.2 – Sistema 3	47
3.2.5 – Precisão	53
3.2.6 – Exatidão.....	55
3.2.6.1 – Sistema 1	55
3.2.6.2 – Sistema 2	55
3.2.6.3 – Sistema 3	58
3.2.6.4 – Full-Scan vs SIM.....	60
3.2.6.5 – SIM vs SRM.....	61
3.2.7 – Repetibilidade	62
3.2.7.1 – Sistema 1	62
3.2.7.2 – Sistema 2	64
3.2.7.3 – Sistema 3	67

3.2.8 – Sistema 1 vs Sistema 2	72
3.2.9 – Sistema 2 vs Sistema 3	74
3.2.10 – Full-Scan vs SIM.....	77
3.2.11 – SIM vs SRM.....	78
3.3 - Otimização Agilent 7890 A	79
3.3.1 - Otimização 1D-GC-FID.....	79
3.3.1.1 - Teste de Grob.....	79
3.3.1.2 – Hidrocarbonetos	80
3.3.1.3 – HPAs	82
3.4 – Otimização GCxGC-FID:	82
3.4.1 - Teste de Grob.....	83
3.4.2 – Hidrocarbonetos	87
3.4.3 – HPAs	90
Capítulo 4 – Conclusões:.....	91
Capítulo 5 – Referências:.....	93
Anexos	96

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos considerados poluentes prioritários pela Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), estando associados ao aumento de incidência de vários tipos de cancro.

Esta dissertação teve como principal objectivo a validação e optimização dos parâmetros cromatográficos em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa utilizando dezassete HPAs.

Numa primeira fase do trabalho foi optimizado um método analítico para detecção e quantificação dos HPAs por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (1D-GC/MS), ao qual se denominou sistema 1. Neste foram utilizadas as técnicas de *Full-Scan*, *SIM* e *SRM* para a ionização da informação estrutural dos HPAs, nas quais foram avaliados parâmetros de selectividade e sensibilidade, bem como do método cromatográfico em particular, que não apresentou resultados lineares. Assim, procedeu-se à substituição do electrómetro (sistema 2) tal como à alteração do *liner gooseneck por um liner focus* (sistema 3), tendo este último potencializado os resultados obtidos, devido ao aumento do sinal em relação ao ruído, para os compostos com menor massa molecular. No entanto, verificou-se uma discriminação no injector para os compostos com maior massa molecular, devido à baixa temperatura de injeção utilizada.

Posteriormente, foi realizada a análise por GCxGC-FID, tendo sido ensaiadas condições cromatográficas e de modulação para uma solução de Grob e de hidrocarbonetos. Após optimização do modulador, definiu-se um rácio ideal de 1:3, entre o tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios, para se proceder à separação dos compostos em ambas as soluções.

Assim, uma vez que este rácio permite separar eficazmente tanto os compostos polares presentes na solução de Grob, como os hidrocarbonetos, sendo estes apolares, então é possível concluir que uma possível modulação dos HPAs, deverá ter um rácio semelhante.

Contudo, esta verificação não foi realizada, devido a problemas que surgiram com o modulador, tendo como perspectivas futuras a análise de HPAs para este rácio de activação de jactos, num período de modulação entre 4 a 5 segundos.

Palavras-chave: HPAs, 1D-GC/MS, *Full-Scan*, *SIM*, *SRM*, GCxGC-FID.

Abstract

The polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are considered priority pollutants by Environment Protection Agency (EPA) of United States, being associated to the increasing number of different types of cancer.

The main goal of this dissertation was the optimization of modulation parameters for comprehensive two-dimensional gas chromatography, using seventeen PAHs .

In the first part it was optimized an analytic method for PAHs detection and quantification using Gas Chromatography with Mass Spectrometry (1D-GC/MS) which was denominated by system 1. For the acquisition of the structural information, it was used Full-Scan, SIM and SRM techniques, in which the selectivity and sensitivity parameters were evaluated, as well as the specific chromatographic method. The obtained results were not linear and the multiplier was replaced (system 2) such as the changing of the liner gooseneck by a liner focus (system 3), resulting in an increase of the ratio signal-to-noise for the compounds with lower molecular mass. Due the lower temperature of the injector, it was observed an injection discrimination for the compounds with bigger molecular mass.

In a second step, we performed GCxGC-FID analysis, using several chromatographic and modulation conditions for a Grob and hydrocarbons solution. After the optimization of the modulator, we defined a 1:3 ratio between the working time of hot and cold jets, to proceed to the compounds separation in both solutions.

Therefore, as soon as we proved the efficiency of this ratio by the separation of polar compounds in the Grob solution - as the nonpolar hydrocarbons - we conclude that a PAHs modulation might have a similar ratio.

However, this conclusion was not tested due some problems with the modulator. In the future, we look forward to use this ratio in PAHs, for a modulation period between 4 and 5 seconds.

Keywords: PAHs, 1D-GC/MS, *Full-Scan*, *SIM*, *SRM*, GCxGC-FID.

Índice de abreviaturas

- [] aq – Concentração na fase aquosa
[] G – Concentração no estado gasoso
[] org – Concentração na fase orgânica
[] S – Concentração no estado sólido
1D – Unidimensional
1' – 2-metil-naftaleno
2' – 1-metil-naftaleno
3' – Acenaftileno
4' – Acenafteno
5' – Fluoreno
6' – Fenantreno
7' – Antraceno
8' – Fluoranteno
9' – Pireno
10' – Benzo(a)antraceno
11' – Criseno
12' – Benzo(b)fluoranteno
13' – Benzo(k)fluoranteno
14' – Benzo(a)pireno
15' – Indeno(1,2,3-cd)pireno
16' – Dibenzo(a,h)antraceno
17' – Benzo(g,h,i)perileno
 Δ_t – Período de recolha
 μ – Velocidade Linear
 σ – Desvio padrão
 $\sigma_{1,0}$ – Desvio padrão de um pico não modulado da primeira coluna
 σ_t – Desvio padrão do tempo de eluição do pico da primeira coluna
 Φ_1 – Número de picos separados na primeira coluna
 Φ_2 – Número de picos separados na segunda coluna
 Φ_{\max} – Número máximo de picos que podem ser separados nas duas colunas
A – Coeficiente de difusão de Eddy
a – Adsorção
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
B – Coeficiente de difusão longitudinal

b – Ordenada na origem

Branco – Matriz composta apenas pelo solvente da amostra na qual está contida o analito de interesse

CE – *Collision Energy* (Energia de Colisão)

C_m – Resistência à transferência de massa na fase móvel

CRM – *Certified Reference Materials* (Materiais de Referência Certificados)

C_s – Resistência à transferência de massa na fase estacionária

CV – Coeficiente de variação

c – Concentração

C₈ – Octano

C₂₀ – Eicosano

CID – *Collision Induced Dissociation* (Dissociação induzida por colisão)

CO₂ – Dióxido de carbono

E – Exatidão

EPA – *American Environmental Protection Agency* (Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos)

ER – Erro relativo

FID – *Flame Ionization Detector* (Detector de Ionização por Chama)

GC – *Gas Chromatography* (Cromatografia gasosa)

GCxGC – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente

HETP – *Height Equivalent to a Theoretical Plate* (Altura Equivalente a um Prato Teórico)

HPAs – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

HPLC – *High-Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia líquida de alta eficiência)

IARC – *International Agency for Research on Cancer* (Agência Internacional de Pesquisa em Cancro)

ICH – *International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (Conferência Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para o Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano)

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

K – Coeficiente de partição

K' – Coeficiente de Henry

LMCS – *Longitudinal Modulated Cryogenic System* (Sistema Criogénico modulado longitudinalmente)

LOD – *Limit Of Detection* (Limite de Detecção)

LOQ – *Limit Of Quantification* (Limite de Quantificação)

LRI – *Linear Retention Index* (Índice de retenção linear)

m – Declive
 M_R – *Modulation Ratio* (Rácio de modulação)
 MS – *Mass Spectrometry* (Espectrometria de massa)
 m/z – Rácio entre a massa e a carga
 N – Número de pratos teóricos
 N' – Variáveis aleatórias independentes / número de concentrações ou pontos de ensaio
 n – Número de carbonos do hidrocarboneto anterior
 n' – Número de moles
 n'' – *Peak capacity* (número de picos que conseguem ser separados numa coluna cromatográfica)
 $OTCs$ – *Open tubular columns* (colunas tubulares abertas)
 P – Pressão
 P_{crit} – Pressão crítica
 $PFTBA$ – Perfluortributilamina
 $PLOT$ – *Porous-layer open-tubular* (colunas tubulares de revestimento poroso)
 P_M – Período de modulação
 Ppb – Partes por bilião
 Ppm – Partes por milhão
 $Q1$ – Primeiro quadrupolo
 $Q2$ – Segundo quadrupolo
 $Q3$ – Terceiro quadrupolo
 R – Constante dos gases perfeitos
 R^2 – Coeficiente de determinação
 RF – *Response Factor* (Factor de Resposta)
 RT – *Retention Time* (Tempo de Retenção)
 RSD – *Relative Standard Deviation* (Desvio Padrão Relativo)
 S – *Residual Standard Deviation* (Desvio Padrão Residual)
 SD – *Standard Deviation* (Desvio Padrão)
 S/N – Rácio entre o Signal/Noise (Sinal/Ruído)
 SIM – *Selected Ion Monitoring* (Monitorização do Ião Seleccionado)
 $S.M. 1$ – Solução-mãe 1
 $S.M. 2$ – Solução-mãe 2
 $S.M. 3$ – Solução-mãe 3
 SRM – *Selected Reaction Monitoring* (Monitorização da Reacção Seleccionada)
 T – Temperatura
 t_c – Tempo de retenção do composto de interesse
 T_{crit} – Temperatura crítica
 TZ – Número de Trennzahl (número de separação)

V – Volume

WCOT – *Wall-coated open-tubular* (colunas tubulares com revestimento na parede)

Wh – *Peak width at half height* (largura do pico a meia altura)

\bar{X} – Valor médio

x_i – Variável aleatória de concentração

X_{lab} – Valor obtido experimentalmente ou média aritmética de valores obtidos

X_v – Valor aceite como verdadeiro (valor certificado do *CRM*)

y_i – Variável aleatória de área

Índice de figuras

Figura 1.1 - Estrutura química dos HPAs considerados prioritários pela EPA.....	13
Figura 2.1 - Fluxograma dos três sistemas cromatográficos utilizados na validação do método, em GC/MS.	244
Figura 3.1 - Cromatograma da solução de Grob em GC/MS.....	266
Figura 3.2 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C_{13} - C_{36}), respectivamente identificados, em 1D-GC-FID.....	266
Figura 3.3 - Cromatogramas da solução de HPAs, a castanho, e de hidrocarbonetos (C_{13} - C_{36}), a verde, em GC/MS.....	277
Figura 3.4 - Cromatograma do branco (diclorometano) analisado em modo <i>Full-Scan</i> no sistema 1.....	299
Figura 3.5 - Representação gráfica do coeficiente de determinação em função de cada HPA, para os sistemas 2 e 3, no modo <i>Full-Scan</i>	322
Figura 3.6 - Representação gráfica do coeficiente de determinação em função de cada HPA, para os 3 sistemas no modo <i>SIM</i>	322
Figura 3.7 - Representação gráfica do coeficiente de determinação em função de cada HPA, para os 3 Sistemas no modo <i>SRM</i>	333
Figura 3.8 - Representação gráfica da faixa linear para o 2-metil-naftaleno, em <i>Full-Scan</i> no sistema 2. RF em função do logaritmo da concentração.....	344
Figura 3.9 - Representação gráfica da faixa linear para o 2-metil-naftaleno em <i>SIM</i> no sistema 2. RF em função do logaritmo da concentração.....	366
Figura 3.10a - Representação gráfica da faixa linear e para o acenafteno em <i>SRM</i> no sistema 2 antes da exclusão do ponto assinalado a vermelho. RF em função do logaritmo da concentração.	388
Figura 3.10b - Representação gráfica da faixa linear para o acenafteno em <i>SRM</i> no sistema 2 após exclusão do ponto assinalado a vermelho. RF em função do logaritmo da concentração.	388
Figura 3.11 - Representação gráfica da faixa linear para o fenantreno em <i>SIM</i> no sistema 3. RF em função do logaritmo da concentração.....	41
Figura 3.12 - Representação gráfica da faixa linear para o fenantreno em <i>SRM</i> no sistema 3. RF em função do logaritmo da concentração.....	433
Figura 3.13 - Cromatograma da solução de Grob em 1D-GC-FID.....	80
Figura 3.14 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C_8 - C_{20}), respectivamente identificados, em 1D-GC-FID.....	811
Figura 3.15 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C_{10} - C_{33}), respectivamente identificados, em 1D-GC-FID.....	811
Figura 3.16 - Cromatogramas da solução de HPAs, a laranja, e de hidrocarbonetos (C_{13} - C_{33}), a azul, em 1D-GC-FID.....	822

Figura 3.17 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, com 0,05 e 1,95 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (2,5% - 97,5%).....	833
Figura 3.18 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 0,34 e 1,66 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (17% - 83%).	844
Figura 3.19 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 0,50 e 1,50 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (25% - 75%).	844
Figura 3.20 - Cromatograma com diferentes perspectivas a 3 dimensões da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 0,34 e 1,66 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (25% - 75%).	855
Figura 3.21 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 1 segundo de activação dos jactos quentes e frios (50% - 50%).....	866
Figura 3.22 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, com 1,50 e 0,50 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (75% - 25%).....	866
Figura 3.23 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C ₈ -C ₁₉), devidamente identificados, 0,06 e 2,44 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (2,4% - 97,6%). 87	
Figura 3.24 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C ₈ -C ₁₉), devidamente identificados, 0,42 e 2,08 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (16,8% - 83,2%).	888
Figura 3.25 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C ₈ -C ₁₉), devidamente identificados, 0,63 e 1,87 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (25,2% - 74,8%).	888
Figura 3.26 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C ₈ -C ₁₉), devidamente identificados, com 1,25 segundos de activação dos jactos quentes e frios (50% - 50%).....	899
Figura 3.27 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C ₈ -C ₁₉), devidamente identificados, com 1,87 e 0,63 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (74,8% - 25,2%).	899

Índice de tabelas

Tabela 1.1 - Dezasseis HPAs poluentes prioritários para a EPA e a IARC.	13
Tabela 3.1 - Valores otimizados para análise dos HPAs no modo <i>SIM</i> e <i>SRM</i> (anexos 4-20).	288
Tabela 3.2 - Valores obtidos para a equação linear e coeficiente de determinação, no sistema 1, relativamente a cada HPA.	299
Tabela 3.3 - Valores obtidos para a equação linear e coeficiente de determinação, no sistema 2, relativamente a cada HPA.	30
Tabela 3.4 - Valores obtidos para a equação linear e coeficiente de determinação, no sistema 3, relativamente a cada HPA.	311
Tabela 3.5 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do 2-metil-naftaleno em <i>Full-Scan</i> no sistema 2.....	344
Tabela 3.6 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em <i>Full-Scan</i> no sistema 2.....	355
Tabela 3.7 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do 2-metil-naftaleno em <i>SIM</i> no sistema 2.....	366
Tabela 3.8 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em <i>SIM</i> no sistema 2.....	377
Tabela 3.9a - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do acenafeno em <i>SRM</i> no sistema 2.....	388
Tabela 3.9b - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do acenafeno, após desprezado o ponto assinalado a vermelho na figura 3.10a...	399
Tabela 3.10 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em <i>SRM</i> no sistema 2.....	399
Tabela 3.11 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em <i>Full-Scan</i> no sistema 3.....	40
Tabela 3.12 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do fenantreno em <i>SIM</i> no sistema 3.	422
Tabela 3.13 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em <i>SIM</i> no sistema 3.....	422
Tabela 3.14 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do fenantreno em <i>SRM</i> no sistema 3.	444
Tabela 3.15 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em <i>SRM</i> no sistema 3.....	444
Tabela 3.16 - <i>LOD</i> e <i>LOQ</i> determinados para os HPAs na análise realizada em <i>Full-Scan</i> no sistema 2.....	455
Tabela 3.17 - <i>LOD</i> e <i>LOQ</i> determinados para os HPAs na análise realizada em <i>SIM</i> no sistema 2.	466

Tabela 3.18 - <i>LOD</i> e <i>LOQ</i> determinados para os HPAs na análise realizada em <i>SRM</i> no sistema 2.....	477
Tabela 3.19 - <i>LOD</i> e <i>LOQ</i> determinados para os HPAs na análise realizada em <i>Full-Scan</i> no sistema 3.....	477
Tabela 3.20 - <i>LOD</i> e <i>LOQ</i> determinados para os HPAs na análise realizada em <i>SIM</i> no sistema 3.	488
Tabela 3.21 - <i>LOD</i> e <i>LOQ</i> determinados para os HPAs na análise realizada em <i>SRM</i> no sistema 3.....	499
Tabela 3.22 - Comparação entre os <i>LODs</i> e <i>LOQs</i> obtidos em <i>SIM</i> nos sistemas 2 e 3.	499
Tabela 3.23 - Ajuste das gamas de trabalho e respectivo número de pontos no método <i>SIM</i> , entre os sistemas 2 e 3.....	50
Tabela 3.24 - Comparação entre os <i>LODs</i> e <i>LOQs</i> obtidos em <i>SRM</i> nos sistemas 2 e 3.	511
Tabela 3.25 - Ajuste das gamas de trabalho e respectivo número de pontos no método <i>SRM</i> , entre os sistemas 2 e 3.....	522
Tabela 3.26 - Valores dos RSD (%) da média das áreas obtidos no método <i>SIM</i> e <i>SRM</i> , para o sistema 1, para $N^{\circ}=3$ e $N^{\circ}=4$, respectivamente.	533
Tabela 3.27 - Valores dos RSD (%) da média das áreas obtidos no método <i>Full-Scan</i> , <i>SIM</i> e <i>SRM</i> , para os sistemas 2 e 3, para $N^{\circ}=3$	544
Tabela 3.28 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método <i>Full-Scan</i> no sistema 2, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada..	555
Tabela 3.29 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método <i>SIM</i> no sistema 2, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.....	566
Tabela 3.30 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método <i>SRM</i> no sistema 2, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.....	577
Tabela 3.31 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método <i>Full-Scan</i> no sistema 3, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada..	588
Tabela 3.32 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método <i>SIM</i> no sistema 3, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.....	588
Tabela 3.33 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método <i>SRM</i> no sistema 3, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.....	599
Tabela 3.34 - Comparação de erro relativo (%) e exatidão (%) entre os métodos <i>Full-Scan</i> e <i>SIM</i> , nos sistemas 2 e 3, para cada composto, com a concentração de 250 ppb.	60
Tabela 3.35 - Comparação de erro relativo (%) e exatidão (%) entre os métodos <i>SIM</i> e <i>SRM</i> , nos sistemas 2 e 3, para cada composto, com a concentração de 40 ppb.	611
Tabela 3.36 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>SIM</i> , no sistema 1, para $N^{\circ}=3$	622
Tabela 3.37 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>SRM</i> , no sistema 1, para $N^{\circ}=4$	633

Tabela 3.38 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>Full-Scan</i> , no sistema 2, para $N'=3$ ($N'=2$ para 250 e 1000 ppb).	644
Tabela 3.39 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>SIM</i> , no sistema 2, com $N'=3$ ($N'=2$ para 30 ppb).	655
Tabela 3.40 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>SRM</i> , no sistema 2, com $N'=3$	666
Tabela 3.41 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>Full-Scan</i> , no sistema 3, para $N'=3$ ($N'=2$ para 2000 ppb).	677
Tabela 3.42 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>SIM</i> , no sistema 3, para $N'=3$ ($N'=2$ para 20, 30, 40 e 250 ppb).	688
Tabela 3.43 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método <i>SRM</i> , no sistema 3, para $N'=3$ ($N'=2$ para 10, 20, 30, 40 e 50 ppb).	699
Tabela 3.44 - Valores da média de S/N obtidos no método <i>SIM</i> para o sistema 1 e 2, para $N'=3$	733
Tabela 3.45 - Valores da média de S/N obtidos no método <i>SRM</i> para o sistema 1 e 2, para $N'=3$	733
Tabela 3.46 - Valores da média de S/N obtidos no método <i>Full-Scan</i> para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$	744
Tabela 3.47 - Valores da média de S/N obtidos no método <i>SIM</i> para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$	755
Tabela 3.48 - Valores da média de S/N obtidos no método <i>SRM</i> para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$	766
Tabela 3.49 - Valores da média de S/N obtidos para a concentração de 250 ppb, no método <i>Full-Scan</i> e <i>SIM</i> , para os sistemas 2 e 3, com $N'=3$	777
Tabela 3.50 - Valores da média de S/N obtidos para uma gama de concentrações entre os 5 e os 50 ppb, no método <i>SIM</i> e <i>SRM</i> , para os sistemas 2 e 3, com $N'=3$	788

Capítulo 1

Introdução

1.1 – Cromatografia

A cromatografia define-se como uma técnica de separação dos vários compostos presentes numa mistura entre duas fases imiscíveis, uma estacionária e outra móvel que percorre a primeira. ^[1]

Existem vários tipos de métodos cromatográficos, sendo que todos se resumem ao equilíbrio obtido por um dado composto com ambas as fases. ^[2] Dependendo do composto, este irá ter uma maior afinidade com uma destas fases, devido às interações intermoleculares entre estes. ^[1] Desta forma, se um composto tem uma maior afinidade com a fase estacionária, este irá permanecer mais tempo nesta fase, observando-se um maior tempo de eluição. Por contraste, caso este tenha uma maior afinidade com a fase móvel, então irá permanecer menos tempo no sistema, observando-se um menor tempo de eluição. Esta interacção pode ser medida através do coeficiente de partição ou constante de distribuição, representada por K, que se traduz no rácio entre a concentração do analito em equilíbrio em cada uma das fases, $K = \frac{[] S}{[] G}$ ou $K = \frac{[] org}{[] aq}$, para a cromatografia gasosa ou líquida, respectivamente. ^[3, 4]

1.2 – Tipos de cromatografia

De um modo geral, a cromatografia divide-se em três tipos consoante o estado físico da fase móvel que é utilizada, a de fluidos supercríticos, líquida e gasosa.

1.2.1 – Cromatografia de fluidos supercríticos

Na cromatografia de fluidos supercríticos a fase móvel é um gás que é aquecido de forma a atingir a temperatura crítica, sendo sujeito a uma pressão de vapor, denominada pressão crítica, onde é alcançado o ponto crítico. Neste ponto, este gás encontra-se apenas sob a forma de fluido supercrítico. Devido ao facto do CO₂ ser um solvente que se encontra no estado de fluido supercrítico a valores moderados de pressão ($P_{crit} = 7,3\text{MPa}$) e temperatura crítica ($T_{crit} = 31\text{ °C}$), este é o mais utilizado como fase móvel. Para além disso, isto deve-se ao facto deste possuir um baixo custo de produção, propriedades não inflamáveis, existir em abundância, ser inerte para a maioria dos compostos, ser miscível para uma vasta variedade de solventes orgânicos e possuir tanto uma baixa viscosidade como uma baixa tensão superficial. ^[5]

1.2.2 – Cromatografia líquida

Na cromatografia líquida, é utilizada como fase móvel um solvente líquido. No entanto, esta pode decompor-se em dois tipos, a cromatografia líquido-sólido e a cromatografia líquido-líquido. Na primeira, ao contrário da fase móvel, é utilizada uma fase estacionária sólida, onde o principal mecanismo de retenção é a adsorção. Este ocorre através da transferência do soluto da fase móvel para a fase estacionária, devido a interações entre as misturas líquidas e as superfícies sólidas, relacionando-se também com as diferenças nos pesos moleculares dos solutos e solventes.

[6] Para tal, são frequentemente utilizados compostos polares, como a sílica e a alumina que, por sua vez, permitem que ocorra retenção de compostos com a mesma polaridade. Deste modo, é utilizado como fase móvel compostos não polares ou pouco polares para que se consigam eluir compostos pouco polares que, por sua vez, têm pouca afinidade com a fase estacionária. Pode-se ainda alterar a fase móvel durante esta separação, de modo a que se consigam separar diferentes compostos com polaridades diferentes.

Na cromatografia líquido-líquido, em ambas as fases é utilizado um solvente líquido. Esta é uma das técnicas de separação que mais frequentemente se utiliza para identificar, quantificar e separar vários componentes numa mistura. Uma das técnicas mais utilizadas é a cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC que, consoante o solvente utilizado, depende da adsorção, partição, exclusão ou troca iónica. Nesta, ocorre uma pressão elevada para empurrar o solvente para dentro da coluna cromatográfica, cujas partículas possuem um tamanho entre 3 a 5 µm. Devido ao seu baixo tamanho, este tipo de cromatografia permite uma maior resolução e um aumento da eficiência da coluna, que é comprovado pela equação de Van Deemter, que corresponde à altura equivalente de um prato teórico, $HETP = A + \frac{B}{u} + (C_s + C_m) \cdot u$, relacionando assim a taxa de fluxo com a altura do prato teórico. Nesta técnica, o cromatógrafo é ligado a um detector, que para além de outras características, necessita de possuir uma alta sensibilidade em relação ao soluto ao longo da fase móvel, de forma a conseguir qualificar e quantificar os analitos separado a partir dos picos obtidos. [7]

1.2.3 – Cromatografia gasosa

Quanto à cromatografia gasosa, esta resume-se, tal como a anterior, à separação e obtenção de informação dos compostos de uma mistura através de uma análise qualitativa e quantitativa. [3, 4] A análise qualitativa é procedida através da comparação entre o tempo de retenção obtido de um composto, com um índice de retenção linear (*LRI*) que tem como referência os tempos de retenção de dois n-alcanos que são eluídos antes e depois do composto em análise, ou pelo índice de retenção linear obtido a partir da injeção do padrão. Assim, o índice de retenção linear de um analito pode ser definido como o número de carbonos de um n-alcano, multiplicado

por cem, que tem o mesmo tempo de retenção que este analito, pela seguinte equação: $LRI = 100 * (\frac{t_c - t_n}{t_{n+1} - t_n} + n)$, onde t_c representa o tempo de retenção do composto de interesse; t_n representa o tempo de retenção do hidrocarboneto anterior; t_{n+1} representa o tempo de retenção do hidrocarboneto posterior; n representa o número de carbonos do hidrocarboneto anterior. [2, 8, 9]

Já a análise quantitativa é realizada a partir da comparação dos picos obtidos no cromatograma, referentes a cada analito presente numa mistura, podendo esta ser realizada a partir de calibração externa ou da adição de padrão interno. Na primeira, é obtido um sinal proporcional à concentração da amostra, através da utilização de padrões externos, assumindo-se a mesma sensibilidade do aparelho para a amostra e para o padrão. Na adição de padrão interno, obtém-se uma quantidade conhecida de um composto que, contrariamente ao analito que possui uma quantidade desconhecida, é injectado no cromatógrafo e separado sob as mesmas condições cromatográficas, a fim de ser possível verificar qual a quantidade de analito que está presente numa determinada amostra. Esta é realizada através da comparação entre os picos obtidos do padrão interno e do analito, onde os sinais obtidos são medidos em função da quantidade de padrão adicionada. [4]

Tal como a anterior, esta técnica pode encontrar-se sob duas formas, a cromatografia gás-sólido e a cromatografia gás-líquido, sendo que a primeira possui uma fase estacionária sólida e uma fase móvel gasosa, cujo principal método de separação se deve à adsorção dos analitos que se encontram na fase gasosa pela superfície da fase estacionária. [2] Esta adsorção é proporcional à concentração dos compostos que se encontram na fase móvel, podendo ser calculada através da seguinte equação: $a = K \cdot c$, onde K corresponde ao coeficiente de Henry. [10]

1.3 – Fase estacionária

Independentemente da fase estacionária empregue, são utilizadas para ambas as técnicas colunas capilares feitas de sílica fundida, designadas por *OTCs* (*open-tubular columns*). [1, 28] Na cromatografia gás-sólido, a amostra vai percorrer uma coluna cromatográfica, cuja fase estacionária é coberta por uma camada porosa sólida, que contém uma superfície bastante adsorvente, sendo os compostos parcialmente adsorvidos nesta, designando-se por *PLOT* (*porous-layer open-tubular*). Na cromatografia gás-líquido, a fase estacionária apresenta um revestimento de um polímero líquido, a poli-imida, no qual os compostos são parcialmente adsorvidos por esta, designando-se por *WCOT* (*wall-coated open-tubular*).

Estas diferem ainda no comprimento, tendo as colunas *WCOT* maior comprimento do que as colunas *PLOT*, para além de apresentarem ainda maior eficiência de separação do que as colunas *PLOT*, no entanto, estas possuem uma maior capacidade de amostra do que as colunas *WCOT*. [9, 11]

1.4 – Fase móvel

A fase móvel é a responsável pelo transporte da amostra ao longo da coluna, não influenciando os mecanismos de retenção da mesma. ^[1, 12] No caso da cromatografia gasosa, a escolha do gás de arraste influencia a velocidade e resolução da análise cromatográfica. ^[11, 12] Assim, para determinar qual o gás adequado para cada análise, existem alguns factores que devem ser tomados em consideração, tais como a necessidade destes serem gases inertes, não sofrendo alterações quando submetidos a determinadas condições, e que assumam o comportamento de um gás ideal, de acordo com a fórmula: $pV = nRT$, o que se verifica para o hidrogénio, hélio e azoto. ^[3, 11] No entanto, observam-se diferenças no uso nos respectivos gases, nomeadamente na comparação entre a altura equivalente a um prato teórico, através da equação de Van Deemter: $HETP = A + \frac{B}{u} + (Cs + Cm) \cdot u$, onde A corresponde ao efeito de difusão das moléculas da amostra devido aos diferentes caminhos seguidos pelas mesmas; B descreve o coeficiente de difusão molecular do soluto na fase móvel; C traduz-se na resistência da coluna à transferência de massa do soluto através da mesma; u a velocidade linear do gás de arraste, sendo este igual a L/t_M , sendo L o comprimento da coluna e t_M o tempo de retenção de um composto não retido. ^[11]

Deste modo, valores menores de altura equivalente a um prato teórico traduzem-se numa maior eficiência. Assim, apesar do azoto permitir a obtenção da menor altura equivalente a um prato teórico, esta só ocorre para valores baixos de velocidade linear, na ordem dos 20 cm/s, o que originaria uma separação lenta dos compostos. Em contrapartida, o hidrogénio mantém a eficiência da separação dentro de uma gama mais ampla de velocidades lineares, no qual se obtém um maior número de pratos teóricos por unidade de tempo. ^[11, 12]

Quanto à difusividade, esta pode ser definida como uma constante relacionada com a mobilidade dos solutos da fase móvel para a fase estacionária, valor no qual se verifica uma proporcionalidade em relação à velocidade de uma corrida cromatográfica. Deste modo, uma vez que se verificam valores mais elevados para o hidrogénio, relativamente aos restantes gases, conclui-se que o uso do hidrogénio como gás de arraste origina velocidades mais elevadas de corridas cromatográficas. ^[9, 11, 12]

Outra propriedade dos gases de arraste que se deve ter em consideração é a viscosidade, que pode ser definida como uma medida de resistência ao fluxo cromatográfico. Neste parâmetro, o hidrogénio possui cerca de metade do valor do hélio ou do azoto, para a mesma temperatura, o que se traduz em corridas cromatográficas mais rápidas. Assim, comparativamente aos restantes gases, o hidrogénio necessita de uma pressão menor para atingir a mesma velocidade, sendo que à mesma pressão possui maior velocidade linear e consequentemente menores tempos de retenção dos compostos. ^[11, 12]

1.5 – Cromatografia gasosa bidimensional abrangente

Nos últimos anos, a análise de misturas complexas, tais como amostras petroquímicas, fumo do tabaco ou alimentos compostos por uma enorme variedade de sabores e/ou odores, ganhou extrema importância. ^[8, 13, 14] No entanto, nem sempre se conseguia separar todos os componentes em alguns tipos de amostras mais complexas, através das diversas técnicas cromatográficas utilizadas até à data, uma vez que estas, para além de utilizarem tempos de análise elevados e, por vezes, tipos de instrumentação complexos, não transmitiam toda a informação que está contida numa amostra, referente a cada um dos compostos existentes na mesma. ^[13]

Deste modo, uma vez que na cromatografia gasosa de uma dimensão (1D-GC) não era possível separar e identificar compostos de amostras complexas onde se verificava o mesmo tempo de retenção para vários analitos, ^[15, 16] John B. Phillips e Zaiyou Liu, desenvolveram em 1990 uma técnica inovadora que se denominou por cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). ^[3, 8, 14, 17, 18, 19] Esta foi provavelmente uma das maiores descobertas no ramo da cromatografia gasosa, uma vez que permitiu aumentar a selectividade do sistema cromatográfico, resultando numa maior separação dos analitos realizada no mesmo intervalo de tempo e com a mesma concentração dos compostos, para cada um dos analitos que tivessem o mesmo tempo de retenção. ^[15]

Esta técnica cromatográfica realiza-se em duas colunas, ocorrendo duas separações distintas, onde inicialmente ocorre a injeção da amostra no cromatógrafo, no qual os compostos são submetidos a duas separações cromatográficas, ocorrendo uma primeira separação parcial numa coluna primária. Posteriormente, os analitos são recolhidos desta coluna abandonando-a, sendo de imediato injectados numa coluna secundária, que possui um menor comprimento que a coluna anterior. ^[3, 4, 13, 16, 17, 20] Assim, verifica-se a separação da amostra por ambas as colunas, na qual a resolução obtida na primeira coluna é preservada durante a separação seguinte, ^[3, 8, 18, 21] critérios segundos os quais, a qualificam como abrangente. ^[22] O cromatograma obtido é gravado num gráfico a duas dimensões, obtendo-se no eixo das abcissas e das ordenadas os tempos de retenção e quantidade de cada composto, respectivamente. ^[3, 8]

Ambas as colunas possuem fases estacionárias com polaridades diferentes, sendo uma destas polar e a outra apolar, ocorrendo deste modo uma separação dos compostos com mecanismos de retenção distintos e independentes para cada uma das colunas, designando-se esta separação como ortogonal. A eficiência da separação depende do tipo de amostra e do tipo de colunas utilizadas em ambas as separações e não, necessariamente, da ortogonalidade do sistema bidimensional. ^[4, 13, 14, 16, 17, 22]

1.5.1 – Conjunto de colunas

De modo geral, são utilizadas na primeira e segunda coluna uma fase estacionária apolar e polar, respectivamente. Considera-se, deste modo, que todas as separações realizadas em cromatografia gasosa se baseiem em dois parâmetros, sendo estes, a volatilidade dos analitos e as suas interações com a fase estacionária. Deste modo, a separação realizada na primeira coluna baseia-se no ponto de ebulição dos compostos, motivo pelo qual esta apresenta um maior comprimento e, diversamente a esta, a separação na coluna seguinte ocorre com base na polaridade entre os analitos e a fase estacionária. Ainda assim, esta polaridade de ambas as fases estacionárias das colunas pode variar, dependendo dos analitos em questão que se pretende separar de determinada amostra. Desta forma, quando se realiza uma análise enanteomérica, esta separação pode não se verificar ortogonal, pois são utilizadas duas colunas com o mesmo tipo de polaridade, verificando-se uma primeira e segunda separações com base na volatilidade e na estereoselectividade, respectivamente. [4, 13, 22]

1.5.2 – Capacidade de pico

Um dos parâmetros que permite calcular a eficiência dessa separação, denomina-se por *peak capacity* (n), que se traduz pelo número de picos que podem ser separados numa coluna cromatográfica num certo tempo de retenção (t_1 - t_n), [4, 23, 24] referente ao número de pratos teóricos existentes na mesma e que se alteram consoante o comprimento e tipo de coluna, podendo estes ser calculados a partir da seguinte expressão geral, para os vários tipos de colunas: $n = 1 + \int_{t_1}^{t_n} \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{dt}{t}$, sendo N igual ao número de pratos teóricos. [24]

Por outras palavras, a *peak capacity* é a informação recolhida na separação realizada na primeira coluna e que é mantida durante a segunda separação, ocorrendo a multiplicação desta para cada dimensão. [3, 4, 13, 25] No caso da primeira coluna conseguir separar mil picos e a segunda conseguir separar trinta picos então, teoricamente, a *peak capacity* será calculada pela multiplicação destes, $\Phi_{\max} = \Phi_1 \times \Phi_2$, resultando numa separação potencial de trinta mil picos. [4, 26]

1.6 – Modulador

Existe, no entanto, uma peça-chave que está posicionada entre ambas as colunas e que permite que estas duas separações ocorram, que se denomina por modulador. [3, 4, 8, 13, 14, 17] Este dispositivo é considerado o coração de todo o sistema de cromatografia gasosa bidimensional abrangente, possuindo três funções essenciais para o funcionamento de todo o sistema. Num primeiro momento, este tem o papel de acumular pequenas fracções do eluente da primeira coluna, durante um certo intervalo de tempo (Δt), denominando-se por período de recolha

(*collection time*), enquanto é procedida a separação da primeira coluna; de seguida, procede a uma orientação das pequenas fracções de amostra previamente armazenadas no tempo e no espaço; por fim, injecta rapidamente estas fracções sob a forma de pulsos estreitos na segunda coluna. [3, 13, 17, 20, 27]

1.6.1 – Período de modulação e ciclo de trabalho

Todavia, existem dois parâmetros chave do modulador que definem as condições de separação, o período de modulação e o ciclo de trabalho (*duty cycle*). [20]

O período de modulação resume-se à quantidade de tempo decorrido entre cada transferência de amostra da primeira para a segunda coluna, [20, 27] que pode ter uma duração entre 2 a 8 segundos. [8, 14] O ciclo de trabalho define-se como a proporção de tempo durante o qual o modulador está operacional, por outras palavras, é a fracção do período de modulação na qual a amostra da primeira coluna é recolhida pelo modulador. [14, 20, 27] Assim, numa combinação entre um ciclo de trabalho de 0,20 e um período de modulação de 2,0 segundos, o tempo total no qual o modulador recolhe a amostra da primeira coluna é de 0,40 segundos (0,20 x 2,0 segundos), sendo este transferido para a segunda coluna a cada 2,0 segundos. [20]

1.6.2 – Tipos de modulação

Dependendo da relação entre o período de recolha (Δ_t), o período de modulação (P_M) e o desvio padrão de um pico não modulado da primeira coluna ($\sigma_{1,o}$), podem ocorrer dois tipos de modulação: *snapshot modulation* e *accumulating modulation*.

A primeira ocorre quando o período de recolha é significativamente mais pequeno que o período de modulação ($\Delta_t \ll P_M$) e que o pico mais estreito eluído da primeira coluna durante o período de modulação ($\Delta_t \ll \sigma_{1,o}$). Durante cada período de modulação de uma *snapshot modulation*, apenas uma pequena porção desse pulso do eluente da primeira coluna é recolhido e libertado para a segunda coluna. Caso o período de modulação seja significativamente maior que o pico mais estreito eluído da primeira coluna durante o período de modulação ($P_M \gg \sigma_{1,o}$), alguns dos compostos eluídos durante o período de modulação podem não ser transferidos para a segunda coluna. Desta forma, toda a informação recolhida relativamente à sua presença na amostra pode ser perdida. Esta é uma falha na eficiência dos moduladores de *snapshot*, impedindo assim a escolha deste método em larga escala em sistemas de cromatografia gasosa bidimensional abrangente. [15]

Contrariamente a esta modulação, a *accumulating modulation* define-se como uma modulação de aproximação, onde a recolha do eluente da primeira coluna ocorre durante todo, ou quase todo, o intervalo de modulação ($\Delta_t = P_M$). No final do período de recolha, o eluente recolhido é libertado para a segunda coluna, [15] na qual a separação da amostra na segunda coluna

é procedida anteriormente à injeção da fracção seguinte de eluente na mesma. ^[13] Ao contrário da *snapshot modulation*, nesta modulação não ocorre a perda de informação relativamente à amostra recolhida, motivo pelo qual actualmente a maioria dos sistemas de cromatografia gasosa bidimensional abrangente utilizam apenas moduladores deste tipo. ^[15]

Idealmente, as segundas separações devem ser realizadas sem que haja diminuição da separação produzida pela primeira coluna. No entanto, isto traduz-se numa limitação do período de recolha uma vez que, quando este é maior que a largura dos picos eluídos na primeira coluna ($\Delta_t \gg \sigma_{1,0}$), resulta numa perda de resolução da coluna primária. Porém, quando os períodos de recolha são pequenos, estes vão originar uma diminuição do tempo disponível para que seja realizada a segunda separação e, deste modo, vai ocorrer uma diminuição da resolução da coluna secundária. ^[27, 28] Desta forma, pretende-se que os moduladores transfiram uma fracção reprodutível de cada composto da primeira para a segunda coluna, o que pode não ocorrer caso se verifique um período de recolha elevado e um ciclo de trabalho inferior a 1,0. ^[28] Assim, para que não haja uma diminuição da resolução de cada pico obtido a partir da primeira coluna, são feitas entre três a quatro modulações, prevenindo que os restantes componentes da matriz da amostra entrem na segunda coluna, permitindo assim que os analitos sejam totalmente separados da matriz da amostra no final da segunda coluna. ^[3, 8, 14] O objectivo, das modulações é aumentar a *peak capacity* para compostos em zonas onde estes se apresentam pouco nítidos e de difícil análise. ^[4]

1.6.3 – *Wrap-around* – efeito envelope

Contudo, por vezes observa-se uma coeluição de picos a partir de diferentes ciclos de modulação, o que afecta a eficiência da separação. Isto ocorre quando o período de modulação é inferior ao tempo de retenção dos compostos, no qual se verifica uma eluição dos analitos no ciclo de modulação seguinte, denominando-se por *wrap-around*. ^[2, 14, 15] Assim, verifica-se uma separação da amostra na segunda coluna realizada posteriormente à injeção da fracção seguinte de eluente nesta coluna. Para que se evite esta coeluição de picos, é necessário realizar um reajuste das condições experimentais, nomeadamente, um aumento de temperatura para a segunda coluna, o que se traduz numa diminuição do tempo de retenção dos compostos nessa coluna, observando-se então uma eluição desses compostos no seu próprio ciclo de modulação. ^[13] No entanto, para que seja possível detectar as rápidas separações a que as amostras são sujeitas, é necessário o uso de detectores que possuam um rápido tempo de resposta em relação ao sinal obtido e baixo volume interno. ^[8, 13]

1.7 – Tipos de moduladores

Entre os diversos tipos de moduladores que actualmente existem, estes podem classificar-se em duas categorias: os moduladores à base de válvula (*valve-based modulators*) e os moduladores térmicos (*thermal modulators*). [3, 8, 20]

1.7.1 – Moduladores de válvula

Os moduladores de válvula foram introduzidos na cromatografia gasosa bidimensional abrangente por Bruckner et al. em 1997 [3, 8] e dividem-se em dois tipos: moduladores de derivação de fluxo (*flow diversion*) e moduladores de fluxo diferencial (*differential flow*). [3, 20]

Os moduladores de derivação de fluxo utilizam uma válvula de diafragma de alta velocidade para produzir uma série de pulsos na entrada da coluna secundária. No entanto, são moduladores menos sensíveis que os moduladores térmicos, pois aprisionam apenas 10 a 20% dos analitos eluídos na primeira coluna. [3, 8, 20] Deste modo, o eluente da primeira coluna é armazenado apenas durante uma pequena parte do período de modulação, o que se reflete em dois factores negativos. Um destes, é o facto de não ser possível a maximização da sensibilidade do sistema, referente ao valor de detecção mínima de um analito (*LOD*). Para além deste, a fracção que é transferida da primeira para a segunda coluna pode ser inconstante, podendo esta ser minimizada com a escolha correcta do período de modulação. [20] No caso do período de modulação ser demasiado elevado, a quantidade total do composto que é transferido para a segunda coluna dependerá da posição do pico primário da sequência da modulação, ou seja, caso o período de modulação seja significativamente maior que a largura do pico eluído da primeira coluna, então todo o pico será perdido caso a sua eluição ocorra entre as injeções na segunda coluna. [3] O rácio da largura do pico primário (4 segundos) e do período de modulação representa a fracção transferida de eluente, designam-se por rácio da modulação (M_R), [3, 20] sendo calculada segundo a fórmula $MR = \frac{4\sigma_t}{P_M}$, onde σ_t representa o desvio padrão do tempo de eluição do pico da primeira coluna e P_M representa o período de modulação. [20] Uma vez que estes moduladores têm valores de ciclo de trabalho inferiores a 1,0, são classificados como moduladores de baixo ciclo de trabalho (*low-duty cycle modulator*). [3, 20, 27]

A modulação de fluxo diferencial foi demonstrada a primeira vez por Seeley et al. [3, 8] e utiliza uma válvula de diafragma equipada com um *loop* da amostra, que recolhe o eluente da primeira coluna. Perto do final do período de modulação, a válvula é accionada e 80% do conteúdo do *loop* é libertado para a segunda coluna, [3, 8, 20] alcançando o detector numa taxa de fluxo do gás de arraste superior ao da primeira coluna, [3, 13, 16, 20] sendo o tempo necessário para libertar o *loop* muito menor do que o necessário para o encher. [3] Uma vez que o armazenamento do primeiro eluente é uniforme, isto significa que estes moduladores utilizam um ciclo de trabalho de 1,0. [3, 8, 27] A transferência completa do eluente da primeira para a segunda coluna permite que

estes moduladores façam uma separação a duas dimensões sem que ocorra uma diminuição da sensibilidade. No entanto, a necessidade de utilizar elevados fluxos de gás de arraste na segunda coluna a fim de ser possível reorientar as fracções de amostra anteriormente recolhidas, representa uma limitação para este tipo de modulação, resultando num aumento da altura dos pratos teóricos. Deste modo, verifica-se uma diminuição da resolução cromatográfica, ^[13, 20] que pode no entanto ser compensada com o uso de colunas secundárias mais longas. ^[3]

1.7.2 – Moduladores térmicos

Na maioria dos sistemas de cromatografia gasosa bidimensional abrangente são utilizados moduladores térmicos. ^[3, 8] Estes foram desenvolvidos em 1999 Marriot e Kinghorn e utilizavam um sistema criogénico modulado longitudinalmente (*Longitudinal Modulated Cryogenic System, LMCS*), ^[3, 8, 13, 21] que se baseava no aprisionamento dos compostos na saída da primeira coluna, através de um dispositivo que se movia longitudinalmente num segmento capilar entre as colunas cromatográficas, no qual era libertado um jacto de CO₂ líquido. De seguida, estes eram libertados para a segunda coluna através de um rápido aquecimento fornecido pela temperatura do forno. Posteriormente, este dispositivo regressava à sua posição inicial, aprisionando uma segunda fracção de analitos, verificando-se este ciclo durante toda a corrida cromatográfica. ^[8, 14] No entanto, este modulador era insuficiente na análise da maioria dos compostos voláteis, pelo facto da temperatura do CO₂ líquido, que está contida entre os -60 e os -30 °C, ^[21] ser insuficiente para que os conseguisse aprisionar. ^[8]

Assim, de modo a melhorar este método de modulação, foi desenvolvido em 2003 por Pursh et al. um modulador criogénico de duas fases, onde através de um sistema de modulação de dois jactos de gás quente e frio, no qual é utilizado azoto líquido ao invés de CO₂. ^[8, 21] Deste modo, os jactos gelados são eficazes no aprisionamento dos compostos voláteis e semi-voláteis eluídos da primeira coluna, uma vez que o azoto líquido está contido num intervalo de temperatura entre os -189 e os -90 °C. ^[8] Em termos de eficiência cromatográfica, a performance dos moduladores térmicos é superior à dos moduladores à base de válvula, pois para além de terem um ciclo de trabalho de 1,0, ^[3, 20, 27] estes armazenam na totalidade o eluente da primeira coluna durante todo o período de modulação, fornecendo uma resolução ideal dos picos obtidos. No entanto, estes nem sempre podem ser utilizados em cromatografia, uma vez que a sua aquisição é mais dispendiosa, pelo facto destes usarem enormes quantidades de líquidos criogénicos. ^[3, 20]

1.8 – Detectores

Na cromatografia gasosa podem ser utilizados diversos tipos de detectores, tais como o de ionização por chama, ionização termiónica, captura de eletrões e fotoionização, que se baseiam em processos de ionização na fase gasosa; os de fotometria de chama, luminescência e emissão

atómica, que se baseiam nas propriedades ópticas; os electrolíticos, relacionados com a condutividade electrolítica; ou os que se baseiam na espectrometria e espectroscopia de infravermelho. ^[3]

No entanto, para além dos utilizados na cromatografia gasosa (1D), um detector de cromatografia gasosa bidimensional abrangente necessita de ter um rápido tempo de resposta em relação ao sinal obtido, baixo volume interno, ^[3, 8, 13] alta sensibilidade ^[3] e, essencialmente, uma rápida taxa de aquisição de dados, ^[4, 8, 13, 14] de forma a conseguir reconstruir um cromatograma a duas dimensões, uma vez que a largura dos picos obtidos está compreendida entre 50 a 600 ms da linha de base. ^[8, 13, 14] Assim, um detector ideal necessita de ter taxas de aquisição na ordem dos 20-100 Hz, ^[8, 14] pois para definir um pico cromatográfico é necessária a aquisição de seis a dez pontos. ^[8]

1.8.1 – Detector de ionização por chama

Deste modo, o detector de ionização por chama (*FID*) é o que mais tem sido utilizado em cromatografia gasosa bidimensional abrangente, ^[3, 8, 29] pois possui pequeno volume interno, curto “*risetime*” e alta aquisição das amostras na ordem dos 50 aos 300 Hz. ^[8, 13] Para além destas, este apresenta baixo nível de ruído, alta sensibilidade e a sua resposta otimizada varia muito pouco em relação a factores como a temperatura do detector, o caudal do hidrogénio e do gás de arraste. ^[3] Por conseguinte, este detector é preferencialmente utilizado na análise de amostras na área da petroquímica, ^[3, 8, 13, 14] sabores e fragâncias, óleos essenciais, solo sedimentos e águas, entre outros. ^[8, 13]

Neste, ocorre a combustão dos compostos constituídos por carbono na chama de hidrogénio do detector, no qual são produzidos iões, verificando-se a passagem de corrente entre os eléctrodos que é mantida a um potencial adequado. Este é um detector selectivo e destrutivo de massa, ^[3, 8] no qual a sua resposta é proporcional à massa de carbono que por ele passa, por unidade de tempo (pg/s), ^[3, 29] independentemente da estrutura do composto, permitindo quantificar componentes numa mistura sem que seja feita um padrão de calibração para cada um deles. Assim, através da comparação entre a área de um pico de um composto desconhecido e um pico de referência calibrado, é possível quantificar as concentrações de compostos numa amostra. ^[3]

1.8.2 – Detector de espectrometria de massa

Outro detector, não menos importante em cromatografia gasosa, é o de espectrometria de massa (*MS*) que, para além de elevada sensibilidade e selectividade, ^[3] possui a enorme vantagem de fornecer informação estrutural dos compostos, tanto qualitativa como quantitativa, devido à fragmentação das moléculas através de diversas ionizações, ^[9] para uma posterior identificação.

[3, 8, 13] Porém, uma vez que não haviam detectores de espectrometria de massa que pudessem corresponder à necessidade de se obter uma elevada taxa de aquisição de dados necessária para esta técnica multidimensional abrangente, foi desenvolvido em 2000 por Van Deursen et al. um detector de espectroscopia de massa por tempo de voo (ToF MS). [8]

Este método possui uma alta taxa de aquisição, no qual é possível obter até duzentos e cinquenta espectros de compostos por segundo, que são necessários para a sua quantificação e reconstrução apropriada dos cromatogramas. [8, 13] Para além disso, tem a vantagem de produzir espectros não distorcidos, pois todos os iões são recolhidos virtualmente através do mesmo intervalo de tempo do cromatograma, para além de conseguir obter espectros de massa puros quando a pureza do composto no pico cromatográfico é baixa, ou seja, quando existe coeluição de compostos. [8]

1.9 – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os compostos policíclicos aromáticos caracterizam-se por terem dois ou mais grupos benzóicos sua estrutura, para além de vários grupos funcionais. No entanto, do ponto de vista ambiental, apenas alguns destes são considerados prioritários, nomeadamente os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). [30, 31]

Estes são constituídos por dois ou mais anéis benzóicos ligados entre si, sendo a sua estrutura composta apenas por carbono e hidrogénio. Formam-se durante a combustão incompleta do carvão, petróleo, gás, madeira, lixo e tabaco. Deste modo, os HPAs estão presentes no ambiente, água e solos.

Actualmente são conhecidos mais de cem HPAs, definindo-se como um dos grupos de compostos mais contaminantes do meio ambiente. No entanto, devido à actividade mutagénica e carcinogénica que alguns destes possuem, estes são considerados prioritários para a Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) e para a Agência Internacional de Pesquisa em Cancro (IARC) (figura 1.1) (tabela 1.1). [30, 32, 33]

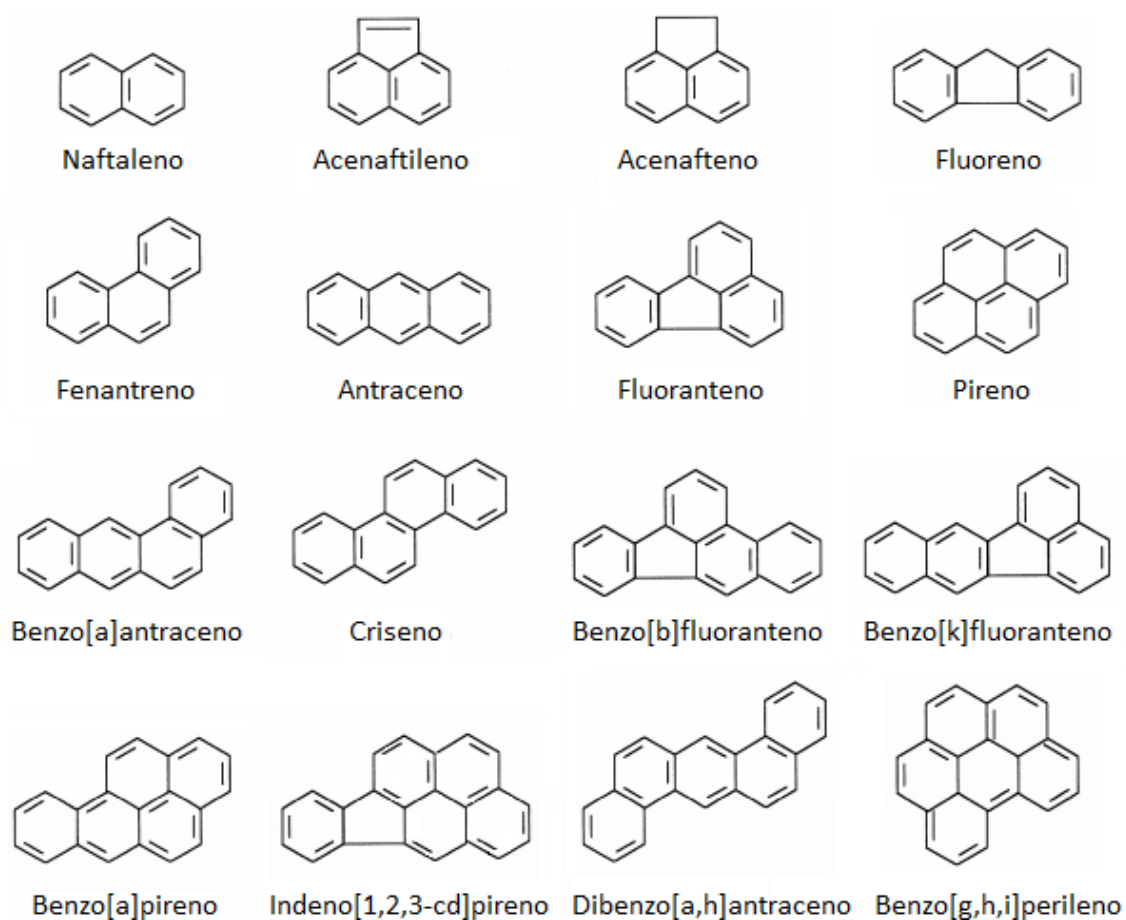


Figura 1.1 - Estrutura química dos HPAs considerados prioritários pela EPA.

Tabela 1.1 - Dezasais HPAs poluentes prioritários para a EPA e a IARC.

HPA	Estrutura (# de anéis)	Massa Molecular (g/mol)	Cancerígeno (humanos)	
			EPA	IARC
Naftaleno	2	128,17	-	-
Acenaftileno	3	152,20	N.C.	-
Acenafteno	3	154,21	-	-
Fluoreno	3	166,22	N.C.	N.C.
Fenantreno	3	178,23	N.C.	N.C.
Antraceno	3	178,23	N.C.	N.C.
Fluoranteno	4	202,26	N.C.	N.C.
Pireno	4	202,26	N.C.	N.C.
Benzo[a]antraceno	4	228,29	a	a
Criseno	4	228,29	a	N.C.
Benzo[b]fluoranteno	5	252,32	a	b
Benzo[k]fluoranteno	5	252,32	a	b
Benzo[a]pireno	5	252,32	a	a
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6	276,34	a	b

Dibenzo[a,h]antraceno	6	278,35	a	-
Benzo[g,h,i]perileno	6	276,34	N.C.	N.C.

^a classificado como provável cancerígeno

^b classificado como possível cancerígeno

N.C. não pode ser classificado como cancerígeno

1.10 – Limite de detecção

Existem vários parâmetros que integram os detectores. Um destes é o limite de detecção (*LOD*), que se traduz na medição da capacidade do detector de conseguir diferenciar o sinal obtido a partir da eluição de um composto do ruído de fundo na sua vizinhança, ao qual se dá o nome de ruído de alta frequência.

Esta medição denomina-se pelo rácio do sinal/ruído (*signal-to-noise*, *S/N*), sendo este assumido como limite de detecção, quando se obtém um rácio de 3:1, segundo o qual, valores mais elevados simbolizam uma melhor detecção do detector referente ao composto em análise, apresentando-se o valor da sua medição em concentração. ^[3, 4] O ruído é um factor que todos os detectores apresentam, podendo a sua ocorrência dever-se a diversos factores, como a vibração, temperatura, processos de detecção, entre outros. ^[3]

No entanto, existem erros do Tipo A (falsos positivos), onde se considera a existência de um analito numa amostra quando na realidade este não está presente e erros do Tipo B (falsos negativos), onde não se considera a existência de um analito quando na realidade este está presente. Deste modo, o limite de detecção permite minimizar estes erros, sendo calculado geralmente através do método da curva analítica, segundo a fórmula: $LOD = 3,3 * \frac{S}{m}$, sendo *S* a estimativa do desvio padrão residual e *m* o declive. O desvio padrão residual pode ser calculado através da fórmula: $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N [y_i - (b + m * x_i)]^2}{N - 2}}$, sendo *y_i* a variável aleatória de área, *x_i* a variável aleatória de concentração, *b* a ordenada na origem, *m* o declive e *N* o número de amostras. ^[34]

1.11 – Limite de Quantificação

Outro parâmetro dos detectores designa-se por *LOQ* (*limit of quantification*), que através da incorporação da calibração e da incerteza das medições, ^[4] permite medir com precisão e exatidão a mais pequena concentração de analito numa amostra. ^[3, 4] Uma vez que um composto só pode ser quantificado após a sua detecção, o *LOD* é sempre igual ou inferior ao *LOQ*, ^[4] sendo este assumido como limite de quantificação, quando se obtém um rácio de 10:1. ^[3]

Deste modo, o *LOQ* pode ser determinado segundo a fórmula: $LOQ = 10 * \frac{S}{m}$, sendo *S* a estimativa do desvio padrão residual e *m* o declive.

1.12 – Optimização

Na análise efectuada por GC/MS existem várias variáveis que podem ser optimizadas para melhorar a selectividade ou a sensibilidade do sistema, desde o injector, até ao detector.

Um dos factores a ter em atenção é a qualidade da coluna, verificando a presença de sangramento da mesma, que pode ser visualizado num cromatograma de um branco com a presença dos iões moleculares de 207, 267 e 281 m/z, que indicam a presença de siloxanos da coluna, que deste modo vão originar limites de detecção significativamente mais baixos, para além de um aumento de ruído nos cromatogramas. [35]

Para além da verificação do sangramento da coluna, existem outros aspectos que devem ser avaliados numa coluna cromatográfica. Para tal, é realizado um teste que produz informação qualitativa e quantitativa sobre os quatro aspectos mais importantes na avaliação de colunas capilares, nomeadamente a eficiência de separação, a acidez e basicidade, a actividade adsorptiva e a espessura do filme, a partir de uma solução composta por uma grande diversidade de compostos, denominada por Grob. Deste modo, dependendo da polaridade da fase estacionária da coluna cromatográfica utilizada, o teste de Grob vai apresentar perfis de eluição diferentes. [36, 37]

Para se determinar a eficiência da coluna, de forma a garantir que esta permite separar devidamente os analitos, é necessário determinar o número de separação em função do número de Trennzahl calculado. Este permite calcular o número de compostos que conseguem ser separados numa coluna cromatográfica, entre dois n-alcanos, sendo utilizado para tal a mistura de Grob, na qual estão presentes o decano e o undecano, C₁₀ e C₁₁, respectivamente, através da fórmula: $TZ = \left| \frac{RT(n+1) - RT(n)}{Wh(n+1) - Wh(n)} \right| - 1$, sendo RT_(n+1) e RT_(n) os tempos de retenção para os hidrocarbonetos homólogos, n+1 e n, respectivamente, e Wh_(n+1) e Wh_(n) a largura dos picos a meia altura, em segundos, para os hidrocarbonetos homólogos, n+1 e n, respectivamente. [38]

Para além deste, outro parâmetro que deve ser tomado em consideração é a afinação de todo o sistema, de forma a optimizar as condições da fonte iónica e a calibração da análise de massa. Esta pode ser realizada com o uso de perfluotributilamina (PFTBA), uma vez que este composto é volátil à temperatura ambiente em condições de vácuo, não contém défices de massa, devido à sua falta de protões, que se traduz-se na diferença entre a massa de um átomo e o somatório das massas de protões, neutrões e electrões que o constituem e ainda pelo facto deste se fragmentar numa ampla gama de massas, 69, 219, 502 m/z, entre outras, o que permite uma optimização da sensibilidade e uma calibração do eixo de massa do sistema.

Outra variável que é necessária de se ter em consideração na optimização do sistema são todos os componentes electrostáticos da fonte iónica, tal como a energia de ionização utilizada, que podem ser optimizados de forma a permitir um melhoramento na abundância dos iões alvo em métodos de análise selectivos, originando um aumento da sensibilidade do mesmo.

Quanto à temperatura, esta terá que ser otimizada para garantir que a linha de transferência, a fonte iônica e o analisador de massas estão à temperatura indicada para um melhoramento dos resultados obtidos. [35]

1.13 – Validação do método

A validação de método define-se pela demonstração de confiabilidade do método analítico utilizado. Esta pode ser estabelecida através de provas documentadas, que proporcionam um elevado grau de segurança de um método específico e dos instrumentos utilizados no mesmo, produzindo resultados que refletem com precisão a qualidade das características do produto testado. [34, 39, 40, 43, 44]

1.13.1 – Selectividade/Especificidade

Segundo a IUPAC, a selectividade define-se como a capacidade que outras substâncias possuem para interferir com o composto em questão. Por outras palavras, a selectividade é a capacidade de um método identificar e distinguir um analito em particular numa mistura complexa sem interferência dos outros componentes. Assim, quanto maior for a interferência de compostos externos àquele que se pretende estudar, menos selectivo é o método em questão. No entanto, este pode ser designado de específico, caso o método em questão seja 100% selectivo, ou seja, quando a grandeza medida provém apenas do analito, sem a presença de interferência de outros compostos. [34, 39, 41, 42]

1.13.2 – Linearidade/Faixa de aplicação

A linearidade define-se como a capacidade de obter resultados de teste, que em GC/MS se traduzem pelas áreas, directamente proporcionais à concentração do analito na amostra. [39, 41] Esta correlação entre o sinal medido e a concentração da amostra a ser quantificada pode ser expressa através da equação da recta, denominada por curva analítica, relacionando deste modo as duas variáveis: $y = mx + b$, onde y representa a resposta medida (área do pico), x representa a concentração, m representa o declive da curva de calibração e b representa a ordenada na origem, sendo posteriormente realizado um ajustamento do respectivo modelo estatístico linear, através da determinação do coeficiente de determinação, R^2 , parâmetro esse que permite avaliar a calibração analítica, com base na regressão linear. [34, 42] Este parâmetro permite estimar a qualidade da curva analítica obtida, assumindo como valor ideal um coeficiente de determinação igual a 1. Um coeficiente de determinação de 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados, podendo este valor variar consoante a agência ou laboratório em que for realizada

a validação de método. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação superior a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90. [44]

No entanto, esta relação linear descrita pela equação da recta, só é válida num determinado intervalo de concentrações, no qual se pode construir uma curva analítica linear, denominada por faixa linear dinâmica. Um dos modos de calcular quais os pontos de uma curva analítica que estão inseridos na faixa linear, é através do factor de resposta, RF. Este determina-se através da divisão entre o sinal obtido pela respectiva concentração, devendo este valor obtido ser semelhante para o mesmo composto, independentemente da variação da concentração. Posteriormente deve ser construído um gráfico do RF em função do logaritmo da concentração, de forma a observar a linearidade para cada concentração, através de uma recta horizontal, paralela ao eixo das abcissas. Conclui-se que o método é linear para valores de RF entre 95 e 105%.

A faixa de aplicação corresponde ao intervalo entre o valor superior e inferior do composto de análise, que atenda aos requisitos de precisão e exatidão. Esta expressa-se nas mesmas unidades dos resultados obtidos pelo método, podendo a sua gama variar consoante o tipo de amostra e de análise realizada. Para os HPAs, a ICH recomenda uma faixa de aplicação que pode variar 20%, estando compreendida entre os 80 e os 120% do valor esperado. [43]

Com base na faixa de aplicação, obtém-se a gama de trabalho que deverá ser utilizada. Esta define-se como o intervalo no qual o método fornece resultados com uma incerteza aceitável. A extremidade inferior da gama de trabalho é definido pelo *LOQ*. A extremidade superior da gama de trabalho é definida pelas concentrações em que são observadas anomalias significativas da sensibilidade analítica. [41, 42]

1.13.3 – Precisão

A precisão é um termo geral que permite avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos para a mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. Esta pode ser determinada com base no desvio padrão relativo (*RSD*), segundo a fórmula: $RSD(\%) = \frac{SD}{C} * 100$. [34, 42]

1.13.4 – Exatidão

A exatidão do método é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são, entre outros: uso de materiais de referência, participação em comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. [42]

A exatidão de um método pode ser calculada através da fórmula: $E (\%) = \frac{X_{lab}}{X_v} * 100$, ou através da fórmula do cálculo do erro relativo: $ER (\%) = \frac{X_{lab}-X_v}{X_v} * 100$, onde X_{lab} representa o valor obtido experimentalmente, ou a média aritmética de valores obtidos e X_v representa o valor aceite como verdadeiro (valor certificado do CRM).^[34, 42] Um valor de ER inferior ou igual a 5% em alguns casos pode ser satisfatório, sendo no entanto, este valor meramente indicativo. Deste modo, compete ao laboratório definir qual o grau de exigência em termos de exatidão do método de estudo, o qual deve assentar sempre que possível em dados bibliográficos referentes ao método em questão.^[34]

1.13.5 – Robustez

A robustez traduz-se pela habilidade de um método analítico permanecer inalterada devido a pequenas alterações nos parâmetros do método (composição da fase móvel, tempo de vida da coluna, temperatura da coluna) e factores ambientais influentes (temperatura do laboratório, humidade no ar).^[34, 39, 42]

1.14 – Técnicas de ionização em GC/MS

A aquisição da informação estrutural dos compostos através de espectrometria de massa pode ser realizada através de diferentes métodos de ionização, divergindo estes em termos de selectividade e sensibilidade, nomeadamente *Full-Scan*, *SIM* (*Selected Ion Monitoring*) e *SRM* (*Selected Reaction Monitoring*).

1.14.1 – Full-Scan – varrimento total

Este método de ionização permite que seja obtido um espectro de massa contínuo, ao longo de toda a corrida cromatográfica, no qual é realizada simultaneamente uma monitorização dos tempos de retenção para cada analito presente na amostra.^[4]

Assim, para que seja possível determinar qualitativamente cada um dos compostos, é feita uma comparação entre os espectros de massa obtidos com os espectros existentes em bibliotecas,^[4] onde posteriormente terá que ser realizada uma injeção do respectivo padrão de cada composto anteriormente identificado, a fim de ser estabelecida uma total correspondência com o mesmo. Além disso, esta técnica demonstra bastante utilidade, uma vez que permite determinar o ião molecular para cada analito em questão, sendo este o ião de maior intensidade.^[44]

Porém, esta recolha de dados em *Full-Scan* é realizada numa ampla gama de massas, entre 35-500 m/z, o que origina uma diminuição da sensibilidade do espectrómetro de massa, relativamente ao método *SIM* e *SRM*.^[27, 45]

1.14.2 – SIM

Independente do método de ionização empregue em espectrometria de massa, este tem sempre como objectivo identificar os diversos analitos presentes numa amostra. Porém, essa identificação por vezes pode ser difícil em *Full-Scan*, devido a baixas concentrações da amostra, ou a compostos que interfiram na matriz da mesma. No entanto, é possível quantificar os diversos compostos químicos presentes na amostra, desde que o seu espectro de massa seja conhecido, através de uma monitorização dos iões seleccionados (*SIM*), no qual o espectrómetro de massa é configurado apenas para medir uma massa específica. ^[45] Deste modo são apenas monitorizados para cada analito os seus iões moleculares e iões precursores, previamente seleccionados, ao longo de toda a separação. ^[9, 12] Esta tem como principal vantagem obter limites de detecção na ordem de dez a cem vezes mais baixos, comparativamente com a aquisição em *Full-Scan*, uma vez que a sensibilidade deste método é consideravelmente aumentada. ^[9, 12, 45] Ademais, esta selecção de iões característicos aumenta a selectividade do espectrómetro de massa, na medida em que diminui o ruído ao longo da corrida cromatográfica, aumentando o rácio entre o sinal/ruído, uma vez que o tempo de aquisição espectral é utilizado para recolher dados numa gama de massas muito mais reduzido. ^[9, 12]

1.14.3 – SRM

Este é um método de análise que consiste em vários processos consecutivos de ionização de todos os componentes presentes na amostra, realizado através de três filtros de massa, denominado por triplo quadrupolo. Inicialmente, entram no primeiro quadrupolo (Q1) vários iões, passando para o segundo quadrupolo (Q2) apenas os iões precursores. Entrando neste segundo quadrupolo, os iões precursores vão passar por uma câmara de colisão, na qual vão sofrer colisões (*CID – collision induced dissociation*) entre o ião precursor e átomos de azoto ou argon, numa gama entre os 5 e os 50 eV, a uma pressão entre 0,001 e 0,1 Pa. Estas colisões originam a dissociação destes em pequenos fragmentos, denominados iões de produto. Por fim, o terceiro quadrupolo (Q3) filtra os iões previamente produzidos, permitindo somente que alguns iões específicos cheguem até ao detector, evidenciando-se este um método mais selectivo do que os previamente referidos.

Para além disso, este apresenta ganhos de detectabilidade, comparativamente aos métodos de análise anteriormente enumerados, uma vez que permite obter um rácio mais elevado de sinal/ruído, tal como uma menor interferência doutros componentes presentes na amostra. ^[4, 9, 30, 44, 46]

Capítulo 2

Parte experimental

2.1 – Reagentes

Neste trabalho, foram utilizados como reagentes diclorometano 99,8% (Sigma-Aldrich), n-hexano 99% (J. T. Baker), ambos com elevado grau de pureza analítica, azoto líquido, azoto comprimido, hidrogénio comprimido, hélio comprimido, padrão de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (Supelco), padrões de hidrocarbonetos do octano ao eicosano (C_8 - C_{20}) e do heneicosano ao tetracontano (C_{21} - C_{40}) (Supelco) e uma mistura de padrões (2,3-butanodiol, decano, 1-octanol, 2,6-dimetil-fenol, ácido 2-etil-hexanóico, 2,6-dimetil-anilina, dodecano, metil-decanoato, dicitclo-hexilamina, metil-undecanoato e metil-dodecanoato) para realização do teste de Grob. ^[47]

2.2 – Preparação de soluções

Na preparação da solução de Grob, foram pipetados 1 mL de cada um dos padrões que constituem esta respectiva mistura, tendo estes sido diluídos num balão volumétrico de 50 mL com n-hexano.

Na preparação das soluções de hidrocarbonetos, foi novamente pipetado 1 mL dos padrões dos mesmos, procedendo-se à sua respectiva diluição com n-hexano, perfazendo o volume de um balão volumétrico de 50 mL.

Inicialmente, para a preparação da solução-mãe dos HPAs, foi pipetado todo o volume da ampola que continha o padrão de HPAs (1 mL, 2000 ppm) para um balão volumétrico de 100 mL, tendo esta sido lavada repetitivamente com diclorometano, que se adicionou ao balão até se perfazer o volume deste, ao qual se obteve a S.M. 1 (20 ppm).

Partindo desta, procedeu-se à preparação de cinco soluções em balões de 20 mL, com concentrações de 10, 5, 2 e 1 ppm, e uma solução-mãe 2 (1 ppm).

De seguida, partindo da S.M. 2 foram preparadas outras cinco soluções em balões de 20 mL, com concentrações de 500, 250, 100 e 50 ppb, e uma solução-mãe 3 (50 ppb).

Por fim, partindo da S.M. 3 foram preparadas três soluções em balões de 50 mL, com concentrações de 5, 2 e 1 ppb.

2.3 – Instrumentação

Para análise cromatográfica gasosa com detecção selectiva de massa foi utilizado o cromatógrafo Bruker Scion SQ 456 GC/MS, tendo sido utilizado hélio como gás de arraste. A temperatura do injector foi de 250 °C, a temperatura da fonte de 220 °C e a temperatura de interface de 220 °C. Os *softwares* utilizados para processamento e análise dos cromatogramas foram o MS Work Station e o MS Data, respectivamente.

Para análise cromatográfica gasosa bidimensional abrangente com detector de ionização de chama (FID) foi utilizado o cromatógrafo Agilent 7890 A, tendo sido utilizado azoto líquido, hidrogénio gasoso e azoto como gás de arraste. O *software* utilizado para processamento e análise dos cromatogramas foi o CromaTOF.

2.4 – Programas de temperatura

Na realização do teste de Grob, o programa de temperatura utilizado começou aos 40 °C durante o primeiro minuto, tendo sido aumentado em 4 °C por minuto até aos 155 °C, numa corrida que demorou 29,75 minutos.

Para se proceder à análise dos hidrocarbonetos do C₈-C₂₀, a temperatura inicial do forno durante o primeiro minuto foi de 40 °C, sendo aumentada em 4 °C por minuto até aos 195 °C, perfazendo uma corrida de 39,75 minutos.

No programa de temperatura utilizado para a realização da análise dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, a temperatura inicial do forno foi fixada nos 90 °C durante o primeiro minuto, verificando-se um aumento de 6 °C por minuto até aos 295 °C, num total de 35,17 minutos, com uma rampa isotérmica durante os últimos oito minutos, totalizando uma corrida com 43,17 minutos. Na análise dos hidrocarbonetos do C₁₃-C₃₆ foi utilizado o mesmo programa de temperatura dos HPAs.

2.5 – Métodos cromatográficos:

2.5.1 – Bruker Scion SQ 456 GC/MS

Todas as amostras foram injectadas automaticamente, tendo sido utilizado para tal o autosampler CTC Analytics.

O injector foi utilizado em modo splitless durante o primeiro minuto e em modo split num rácio de 1:20 a partir do primeiro minuto, com um fluxo constante de 1 mL/min ao longo de toda a corrida, à temperatura de 250 °C.

2.5.2 – Agilent 7890 A

O injector foi utilizado em modo split num rácio de 1:15, com um fluxo constante de 1 mL/min ao longo de toda a corrida, à temperatura de 250 °C.

Relativamente ao forno secundário, este manteve-se a uma temperatura superior de 15 °C em relação ao forno principal.

O modulador utilizado foi um quad-jet, tendo sido utilizado a uma temperatura superior de 15 °C em relação ao forno secundário. Os períodos de modulação variaram entre os 4 e os 5 segundos, no qual os jactos quentes e frios sofreram um período de intercalação num rácio entre os 2,5 e os 97,5%, alternadamente.

Foi utilizado um detector de ionização de chama (FID), com uma taxa de aquisição de 50 Hz, à temperatura de 300 °C.

2.6 – Colunas cromatográficas

Para o cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrómetro de massa (GC/MS), foi utilizada uma coluna apolar, DB-5 (Phenomenex), composta por fenil (5%) e polidimetilsiloxano (95%), com 25 metros de comprimento x 0,25 mm de largura x 0,25 µm de espessura de filme. [48]

No cromatógrafo gasoso com detector de ionização por chama (GCxGC-FID), foi utilizada uma coluna apolar para a primeira dimensão, RTX-5 (Restek), cuja fase estacionária corresponde à da DB-5, com 10 metros de comprimento x 0,18 mm de largura x 0,20 µm de espessura de filme. A segunda coluna utilizada foi uma DB-17 (Restek) que possui uma fase estacionária de média polaridade, composta por fenil (50%) e polidimetilsiloxano (50%), com 2 metros de comprimento x 0,15 mm de largura x 0,15 µm de espessura de filme. [48]

2.7 – Sistemas cromatográficos – GC/MS

Relativamente ao GC/MS, foram utilizadas três técnicas de ionização diferentes, *Full-Scan*, *SIM* e *SRM*, de forma a otimizar os resultados obtidos, tendo sido utilizada uma solução padrão de HPAs em diclorometano.

Inicialmente procedeu-se a uma análise no modo *Full-Scan*, na qual foi utilizada uma solução de HPAs cuja preparação da mesma foi realizada através de um procedimento incorrecto, tendo o estudo realizado a partir deste método de ionização sido desprezado. Posteriormente, para uma nova solução de HPAs, realizou-se uma análise em *SIM* e *SRM* num sistema cujo electrómetro utilizado já continha um elevado tempo de utilização (sistema 1).

Deste modo, após se ter procedido à análise neste sistema, optou-se por substituir o electrómetro por outro novo, tendo a análise neste novo sistema (sistema 2) sido realizada em modo *Full-Scan*, *SIM* e *SRM*.

No entanto, de forma a potenciar os resultados que se esperariam vir a obter, foi alterado o *liner* que tinha sido utilizado nos dois sistemas anteriormente referidos, *liner gooseneck*, para um *liner focus* (sistema 3), realizando-se a análise neste nos três modos de ionização referidos anteriormente (figura 2.1).

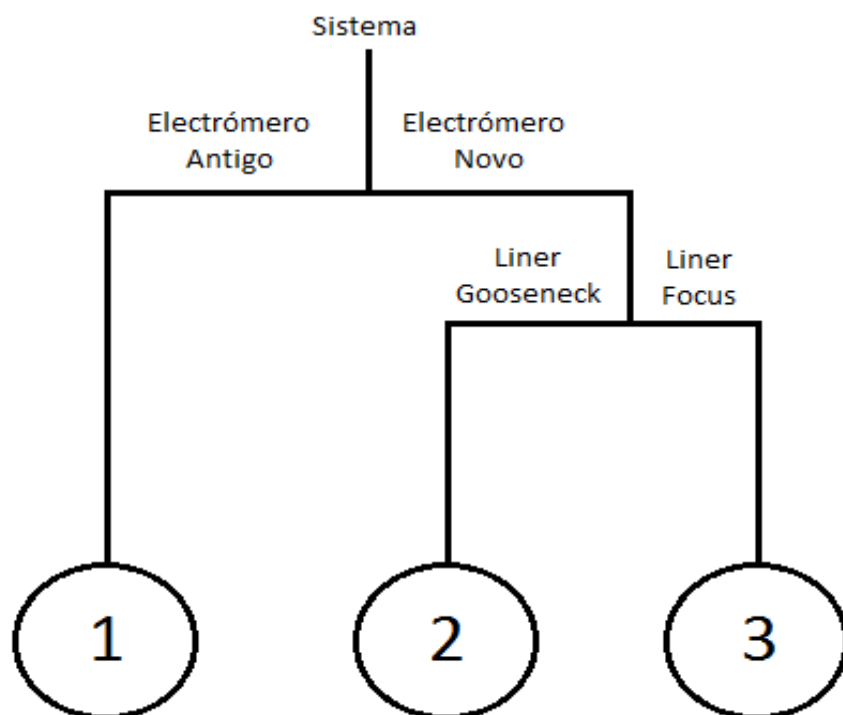


Figura 2.1 - Fluxograma dos três sistemas cromatográficos utilizados na validação do método, em GC/MS.

Capítulo 3

Resultados

3.1 – Optimização Bruker Scion SQ 456 GC/MS

Previamente às injeções das amostras de HPAs no GC/MS, procedeu-se à optimização do sistema cromatográfico, tendo esta sido realizada para o cromatógrafo gasoso e para o espectrómetro de massa.

3.1.1 – Optimização GC

A optimização do sistema cromatográfico realizou-se a partir das injeções de uma mistura de padrões que compõe a solução de Grob e outra mistura de padrões de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀ e C₂₁-C₄₀).

3.1.1.1 – Teste de Grob

A partir da injeção da solução de Grob (figura 3.1), foi calculado o número de Trennzahl, a partir da fórmula: $TZ = \left\lfloor \frac{RT(n+1) - RT(n)}{Wh(n+1) - Wh(n)} \right\rfloor - 1$, onde se determinou que entre o metil-decanoato e o metil-undecanoato seriam possíveis de ser separados até um total de 53,67 compostos, substituindo na equação $TZ = \left\lfloor \frac{26,01 - 22,78}{1,98 - 1,92} \right\rfloor - 1$ e entre o metil-dodecanoato e metil-undecanoato até um total de 24,75 compostos, substituindo na equação $TZ = \left\lfloor \frac{29,10 - 26,01}{1,86 - 1,98} \right\rfloor - 1$, numa escala máxima de 80 para cada um dos pares de ésteres metílicos homólogos (anexo 1).

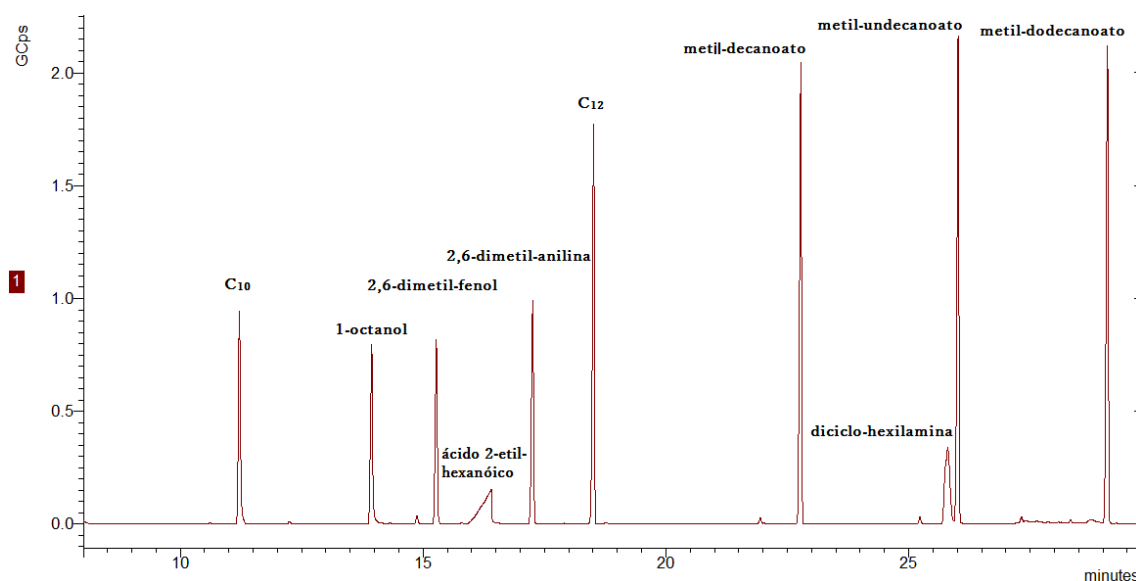


Figura 3.1 - Cromatograma da solução de Grob em GC/MS.

Deste modo, uma vez que existem dois pares homólogos de ésteres metílicos, é possível afirmar que, num total máximo de 160 compostos que seriam possíveis de separar inicialmente nesta coluna, são possíveis de separar actualmente, um total de cerca de 78 compostos. Assim, conclui-se que esta coluna está com cerca de metade do seu tempo total de utilização assumindo-se, deste modo, como eficiente para fins cromatográficos.

3.1.1.2 – Hidrocarbonetos

Após a injeção de Grob, foi injectada uma mistura de padrões de hidrocarbonetos, do C₈-C₄₀ (figura 3.2), para posteriormente se determinarem os *LRI*s para cada HPA (anexo 2).

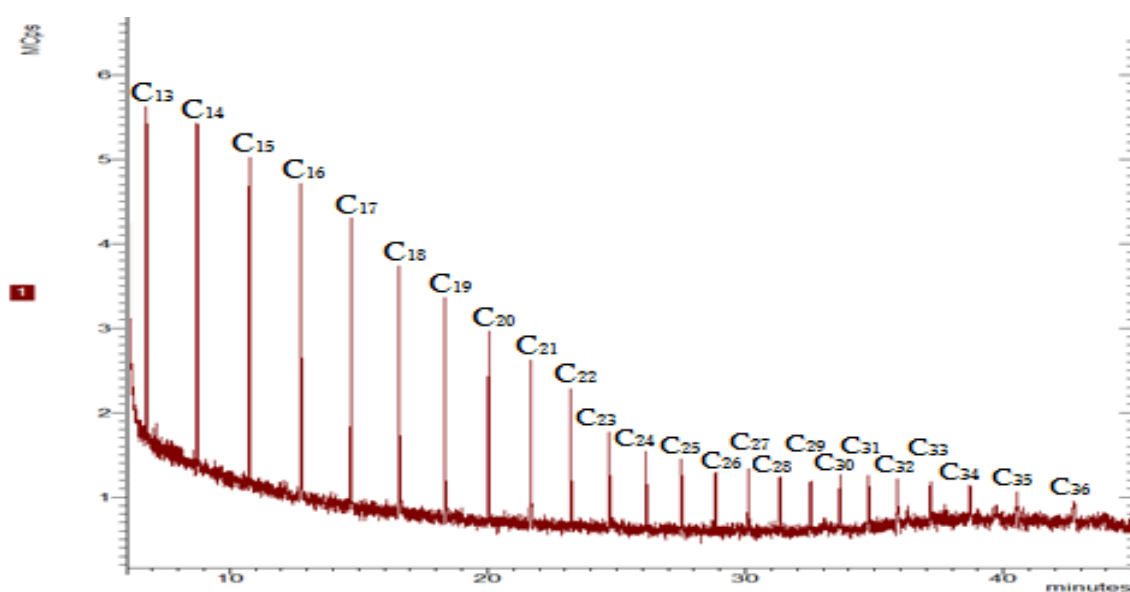


Figura 3.2 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₁₃-C₃₆), respectivamente identificados, em 1D-GC-FID.

3.1.1.3 – HPAs

Seguidamente aos hidrocarbonetos, foi injectada uma solução de HPAs, com a concentração de 10 ppm, ao qual se sobrepôs o cromatograma referente aos hidrocarbonetos (figura 3.2), a fim de se determinarem os *LRI*s para cada um dos HPAs (figura 3.3).

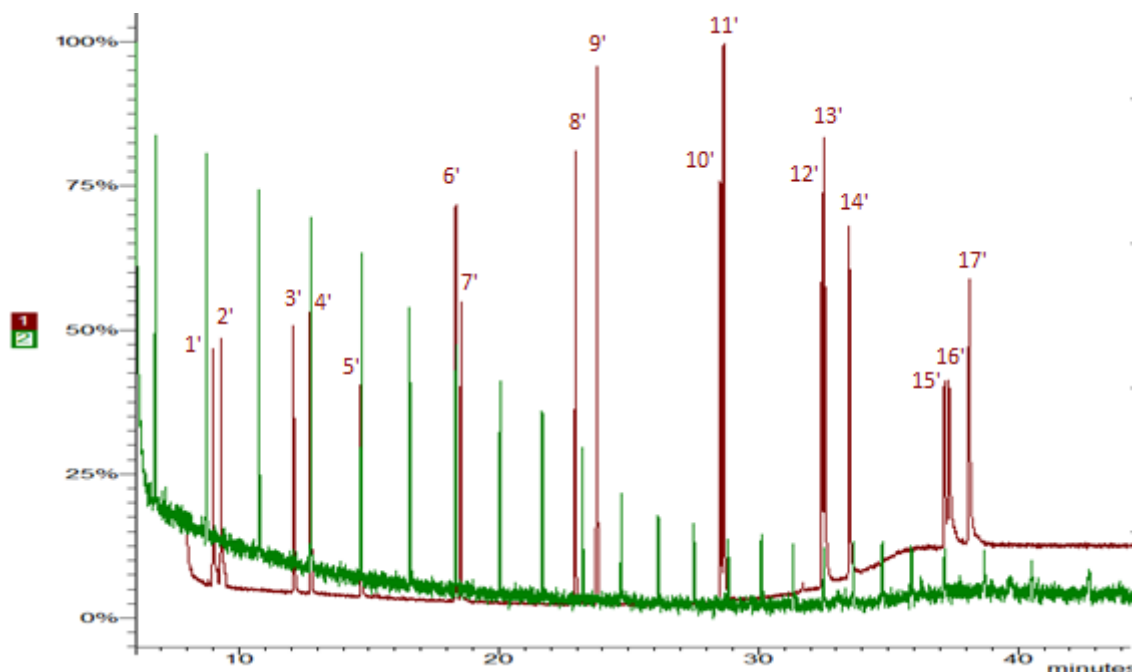


Figura 3.3 - Cromatogramas da solução de HPAs, a castanho, e de hidrocarbonetos (C₁₃-C₃₆), a verde, em GC/MS.

Após sobreposição dos cromatogramas da solução de hidrocarbonetos e da solução de HPAs foram determinados os *LRI*s, com base nos tempos de retenção dos hidrocarbonetos anteriores e posteriores a cada um deles (anexo 3).

3.1.2 – Optimização MS

Para se proceder à análise selectiva dos HPAs foram utilizados os métodos de análise em *SIM* e *SRM*. Deste modo, para cada analito foi determinada a janela espectral, relativamente aos tempos de retenção para cada um destes, o ião molecular e os iões de confirmação para a análise efectuada no modo *SIM* e o ião precursor, o produto iónico e a energia de colisão (anexos 4 - 20) para a análise efectuada no modo *SRM* (tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Valores otimizados para análise dos HPAs no modo *SIM* e *SRM* (anexos 4-20).

HPA	RT (min)	<i>SIM</i>		<i>SRM</i>		MS/MS
		Ião molecular (m/z)	Iões de Confirmação (m/z)	Ião Precursor (m/z)	Produto Iónico (m/z)	CE (V)
2-metil-naftaleno	8,99	142	141 ; 115	142	141	25
1-metil-naftaleno	9,31	142	141 ; 115	142	141	25
Acenaftileno	12,10	152	153 ; 151	152	151	25
Acenafteno	12,75	154	153 ; 152	154	152	25
Fluoreno	14,71	166	165 ; 167	166	165	15
Fenantreno	18,35	178	176 ; 179	178	176	25
Antraceno	18,54	178	89 ; 179	178	176	25
Fluoranteno	22,97	202	203 ; 101	202	201	25
Pireno	23,77	202	203 ; 101	202	201	40
Benzo(a)antraceno	28,54	228	229 ; 114	228	226	35
Criseno	28,67	228	229 ; 114	228	226	40
Benzo(b)fluoranteno	32,46	252	253 ; 126	252	250	35
Benzo(k)fluoranteno	32,52	252	253 ; 125	252	250	40
Benzo(a)pireno	33,51	252	253 ; 126	252	250	40
Indeno(1,2,3-cd)pireno	37,18	276	138 ; 227	276	275	40
Dibenzo(a,h)antraceno	37,36	278	139 ; 279	278	275	40
Benzo(g,h,i)perileno	38,14	276	138 ; 277	276	275	25

3.2 – Validação do método – GC/MS

Relativamente ao GC/MS, após a optimização realizada no espectrómetro de massa com a utilização de três técnicas de ionização distintas, como referido anteriormente, procedeu-se para cada um dos três sistemas cromatográficos à validação do método nos parâmetros de especificidade e selectividade, linearidade e gama analítica, gama de trabalho e faixa de aplicação, limites de detecção e de quantificação, precisão, exatidão e repetibilidade.

3.2.1 – Branco do sistema

De modo a determinar a selectividade do sistema, foi injectada no modo *Full-Scan*, uma solução do branco, composta apenas por diclorometano, de forma a verificar se este continha interferentes na matriz (figura 3.4).

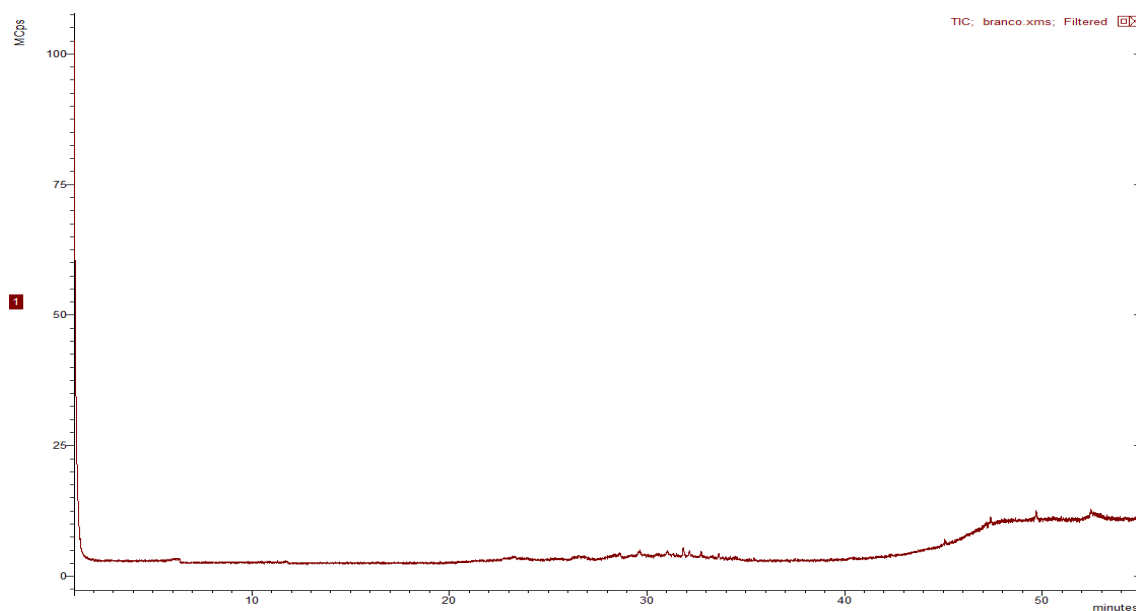


Figura 3.4 - Cromatograma do branco (diclorometano) analisado em modo *Full-Scan* no sistema 1.

Como se pode ver no cromatograma acima representado, o solvente não contém interferentes na matriz, o que significa que o sistema é selectivo e por sua vez específico.

3.2.2 – Linearidade / Gama analítica

No sistema 1, a gama analítica na análise efectuada, tanto por *SIM* como por *SRM*, esteve compreendida entre 10 e 50 ppb. Para ambos, foram determinadas as equações da recta através de um gráfico das médias das áreas obtidas para cada HPA em função da sua respectiva concentração (anexos 21 e 22).

Deste modo, procedeu-se a uma regressão linear, obtendo-se a expressão geral, $y = mx + b$ e o respectivo coeficiente de determinação (tabela 3.2).

Tabela 3.2 - Valores obtidos para a equação linear e coeficiente de determinação, no sistema 1, relativamente a cada HPA.

HPA	Equação linear		R ²	
	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>
2-metil-naftaleno	$y = 12387x - 32492$	$y = 3546x - 29912$	0,9538	0,9473
1-metil-naftaleno	$y = 14845x - 9547,3$	$y = 4397,8x - 27684$	0,9602	0,9646
Acenaftileno	$y = 5089,3x - 19289$	$y = 1891,5x - 15080$	0,9298	0,9512
Acenafteno	$y = 8114,2x - 11743$	$y = 709,42x - 6111,9$	0,9357	0,9519
Fluoreno	$y = 5587,7x - 18430$	$y = 1537,8x - 15414$	0,9202	0,9433
Fenantreno	$y = 11535x - 33400$	$y = 537,35x - 6679,8$	0,9347	0,8834
Antraceno	$y = 5587,7x - 18430$	$y = 300,35x - 4649,7$	0,9202	0,8171
Fluoranteno	$y = 7015,9x - 16557$	$y = 2104,6x - 18447$	0,9079	0,9422
Pireno	$y = 8933,3x - 15688$	$y = 3290,8x - 24130$	0,9407	0,9513

Benzo(a)antraceno	$y = 4854,8x - 35321$	$y = 384,52x - 5983,4$	0,9074	0,8463
Criseno	$y = 10552x - 52500$	$y = 986,88x - 13952$	0,9122	0,8718
Benzo(b)fluoranteno	$y = 4378,5x - 26130$	$y = 332,69x - 4580,9$	0,9079	0,8831
Benzo(k)fluoranteno	$y = 5804x - 46777$	$y = 347,04x - 5041,7$	0,9282	0,8520
Benzo(a)pireno	$y = 1185,6x - 8289,8$	$y = 105,45x - 1539,3$	0,8681	0,8200
Indeno(1,2,3-cd)pireno	$y = 770,14x - 5543,5$	$y = 232,36x - 3452,9$	0,8235	0,8407
Dibenzo(a,h)antraceno	$y = 809,21x - 5324,5$	$y = 77,772x - 1312$	0,7542	0,7696
Benzo(g,h,i)perileno	$y = 2840,3x - 16860$	$y = 304,42x - 4577,8$	0,8943	0,8268

Através dos valores calculados para a tabela 3.2, foi obtida uma média para os coeficientes de determinação, relativamente ao método *SIM* e *SRM* de 0,9058 e 0,8860 respectivamente.

Relativamente aos sistemas 2 e 3, a gama analítica utilizada esteve compreendida entre 0,25 e 5 ppm na ionização em *Full-Scan*, entre 5 e 250 ppb para a ionização em *SIM* e entre 1 e 50 ppb na ionização em *SRM*.

Para ambos foram determinadas as linearidades do método de ionização, através de um gráfico das médias das áreas obtidas para cada HPA em função da sua respectiva concentração (anexos 23, 24 e 25 para o sistema 2; e 26, 27 e 28, para o sistema 3).

De seguida, procedeu-se novamente a uma regressão linear, a partir da qual se obteve a expressão geral $y = mx + b$ e o respectivo coeficiente de determinação, para os sistemas 2 e 3 (tabelas 3.3 e 3.4, respectivamente).

Tabela 3.3 - Valores obtidos para a equação linear e coeficiente de determinação, no sistema 2, relativamente a cada HPA.

HPA	Equação linear			R ²		
	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>
2-metil-naftaleno	$y = 148002x + 8E+06$	$y = 141603x - 64294$	$y = 30747x + 42718$	0,9999	0,9999	0,9673
1-metil-naftaleno	$y = 151881x + 1E+07$	$y = 152676x - 122799$	$y = 33609x + 51591$	0,9995	0,9999	0,9657
Acenaftileno	$y = 160030x + 1E+07$	$y = 66808x - 385416$	$y = 13457x + 11764$	0,9997	0,9978	0,9309
Acenafteno	$y = 183845x + 2E+07$	$y = 83330x - 124937$	$y = 6270,6x + 4804$	0,9997	0,9998	0,9664
Fluoreno	$y = 172385x + 9E+06$	$y = 65548x - 103617$	$y = 16297x + 12075$	0,9997	0,9998	0,9696
Fenantreno	$y = 170906x + 1E+07$	$y = 104760x - 44841$	$y = 4387,4x + 1203,4$	0,9995	0,9994	0,9608
Antraceno	$y = 156993x + 9E+06$	$y = 94460x - 1E+06$	$y = 2079,5x - 2838,4$	0,9994	0,9854	0,9602
Fluoranteno	$y = 155673x + 8E+06$	$y = 46059x - 144904$	$y = 9751,9x + 4358,6$	0,9994	0,9994	0,9706
Pireno	$y = 175104x + 9E+06$	$y = 54267x - 221595$	$y = 11708x + 5955,8$	0,9998	0,9990	0,9651
Benzo(a)antraceno	$y = 133309x - 303889$	$y = 47340x - 422190$	$y = 1941,9x - 1889,4$	0,9994	0,9945	0,9219
Criseno	$y = 148118x + 267222$	$y = 68781x - 304075$	$y = 4330,1x - 3661,1$	0,9993	0,9986	0,9630
Benzo(b)fluoranteno	$y = 122657x - 5E+06$	$y = 41035x - 313489$	$y = 1517,3x - 348,43$	0,9990	0,9967	0,9653
Benzo(k)fluoranteno	$y = 133036x - 1E+07$	$y = 61998x - 522376$	$y = 2092,5x - 1964,3$	0,9989	0,9970	0,9476
Benzo(a)pireno	$y = 125261x - 1E+07$	$y = 15515x - 338957$	$y = 107,93x - 388,75$	0,9971	0,9701	0,3785
Indeno(1,2,3-cd)pireno	$y = 101347x - 2E+07$	$y = 10984x - 89872$	$y = 1650,5x - 2277,2$	0,9982	0,9963	0,9556

Dibenzo(a,h)antraceno	$y = 112494x - 2E+07$	$y = 16105x - 176294$	$y = 1022,3x - 4013,9$	0,9967	0,9949	0,9013
Benzo(g,h,i)perileno	$y = 120356x - 2E+07$	$y = 48846x - 646634$	$y = 1742,4x - 1877,2$	0,9980	0,9884	0,7113

Através dos valores calculados para a tabela 3.3, foi obtida uma média para os coeficientes de determinação, relativamente ao método *Full-Scan*, *SIM* e *SRM* de 0,9990, 0,9951 e 0,9059, respectivamente.

Tabela 3.4 - Valores obtidos para a equação linear e coeficiente de determinação, no sistema 3, relativamente a cada HPA.

HPA	Equação linear			R ²		
	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>
2-metil-naftaleno	$y = 139487x - 2E+07$	$y = 134263x + 774565$	$y = 44324x - 18081$	0,9996	0,9938	0,9883
1-metil-naftaleno	$y = 142277x - 1E+07$	$y = 146436x + 823304$	$y = 45402x - 13747$	0,9998	0,9946	0,9911
Acenaftileno	$y = 158439x - 2E+07$	$y = 64769x - 150556$	$y = 18663x + 28629$	0,9996	0,9986	0,9931
Acenafteno	$y = 183224x - 2E+07$	$y = 82826x + 368293$	$y = 12059x - 17079$	0,9997	0,9945	0,9517
Fluoreno	$y = 177814x - 2E+07$	$y = 68376x + 371751$	$y = 27962x - 24357$	0,9995	0,9942	0,9855
Fenantreno	$y = 190826x - 3E+07$	$y = 115994x + 906327$	$y = 9256x - 10925$	0,9997	0,9923	0,9694
Antraceno	$y = 175244x - 3E+07$	$y = 108040x - 955068$	$y = 2530,1x + 6019,1$	0,9996	0,9863	0,7228
Fluoranteno	$y = 195638x - 3E+07$	$y = 62350x + 393354$	$y = 20487x + 15693$	0,9997	0,9963	0,9946
Pireno	$y = 220070x - 4E+07$	$y = 73399x + 309550$	$y = 23208x + 6890,8$	0,9998	0,9975	0,9997
Benzo(a)antraceno	$y = 190847x - 5E+07$	$y = 66070x - 78772$	$y = 4956x - 14235$	0,9989	0,9964	0,9010
Criseno	$y = 207416x - 5E+07$	$y = 96637x + 157943$	$y = 10689x - 19745$	0,9992	0,9874	0,9800
Benzo(b)fluoranteno	$y = 182165x - 5E+07$	$y = 44759x - 31806$	$y = 3001x - 9462,3$	0,9983	0,9984	0,9132
Benzo(k)fluoranteno	$y = 191887x - 5E+07$	$y = 76276x + 123014$	$y = 4063x - 9424,6$	0,9989	0,9973	0,9885
Benzo(a)pireno	$y = 182340x - 6E+07$	$y = 17806x - 375163$	$y = 134,27x - 732,51$	0,9973	0,9728	0,4014
Indeno(1,2,3-cd)pireno	$y = 132718x - 6E+07$	$y = 5553,1x + 1610,9$	$y = 1335,1x - 5849,1$	0,9912	0,9970	0,8546
Dibenzo(a,h)antraceno	$y = 147696x - 7E+07$	$y = 9036,4x - 25495$	$y = 694,12x - 4769,1$	0,9876	0,9957	0,6875
Benzo(g,h,i)perileno	$y = 147833x - 6E+07$	$y = 28117x - 293834$	$y = 1217,5x - 4177,8$	0,9933	0,9863	0,7148

Através dos valores calculados para a tabela 3.4, foi obtida uma média para os coeficientes de determinação, relativamente ao método *Full-Scan*, *SIM* e *SRM* de 0,9977, 0,9929 e 0,8845, respectivamente.

Após análise das tabelas 3.3 e 3.4, verifica-se que para alguns compostos analisados pelos métodos *SIM* e *SRM*, existem coeficientes de determinação que estão fora dos valores aceitáveis, pelos quais se define a linearidade. Deste modo, teve de se ajustar a gama de trabalho, de forma a que esta se evidenciasse adequada em termos de linearidade, tendo esta sido definida para cada composto, com base na representação gráfica relativamente ao RF (área/concentração) em função do logaritmo da concentração.

Relativamente ao sistema 1, verificam-se que os valores médios obtidos para os coeficientes de determinação tanto para *SIM*, como para *SRM*, de 0,9058 e 0,8860,

respectivamente, se encontram muito abaixo do que se considera aceitável, dependendo da agência ou laboratório, o que comprova a falta de linearidade existente neste sistema.

Comparativamente entre os restantes dois sistemas, verifica-se que o sistema 2 é mais linear para qualquer um dos três métodos de análise. Para além disso, observa-se em ambos os sistemas uma diminuição do coeficiente de determinação do método *Full-Scan* para o *SIM* e deste para o *SRM*, verificando-se deste modo que a utilização de gamas analíticas mais baixas tende a diminuir a linearidade no sistema (figura 3.5, 3.6 e 3.7).

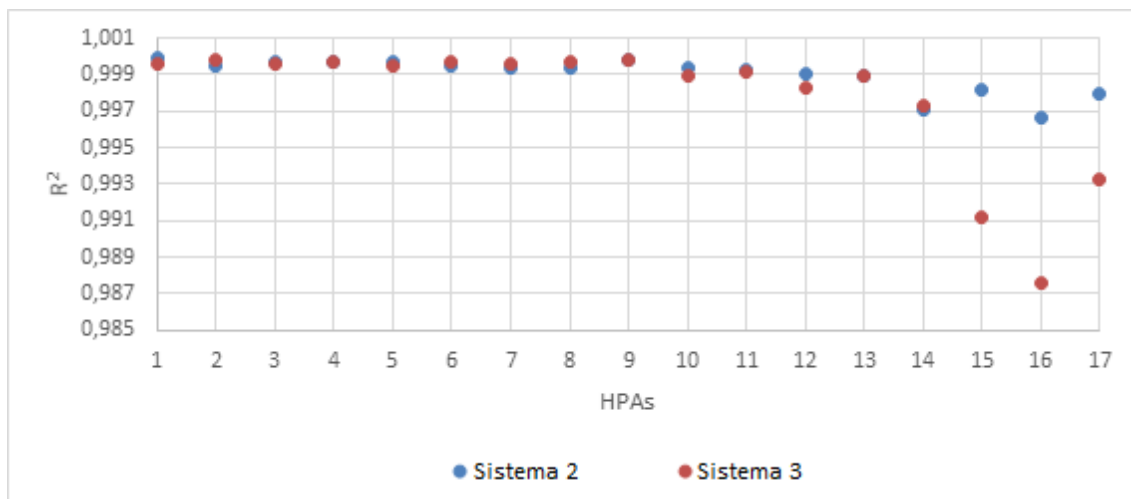


Figura 3.5 - Representação gráfica do coeficiente de determinação em função de cada HPA, para os sistemas 2 e 3, no modo *Full-Scan*.

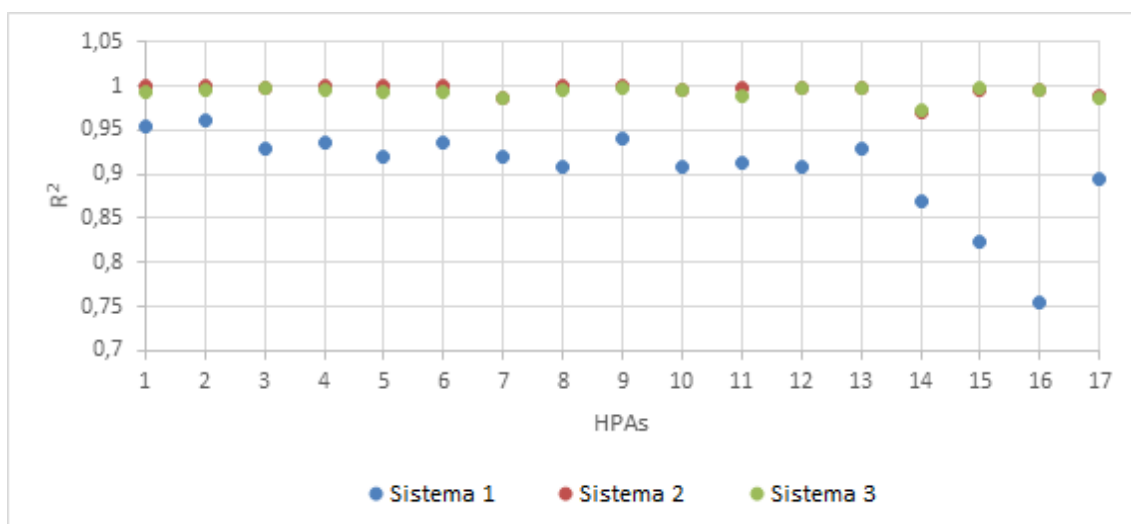


Figura 3.6 - Representação gráfica do coeficiente de determinação em função de cada HPA, para os 3 sistemas no modo *SIM*.

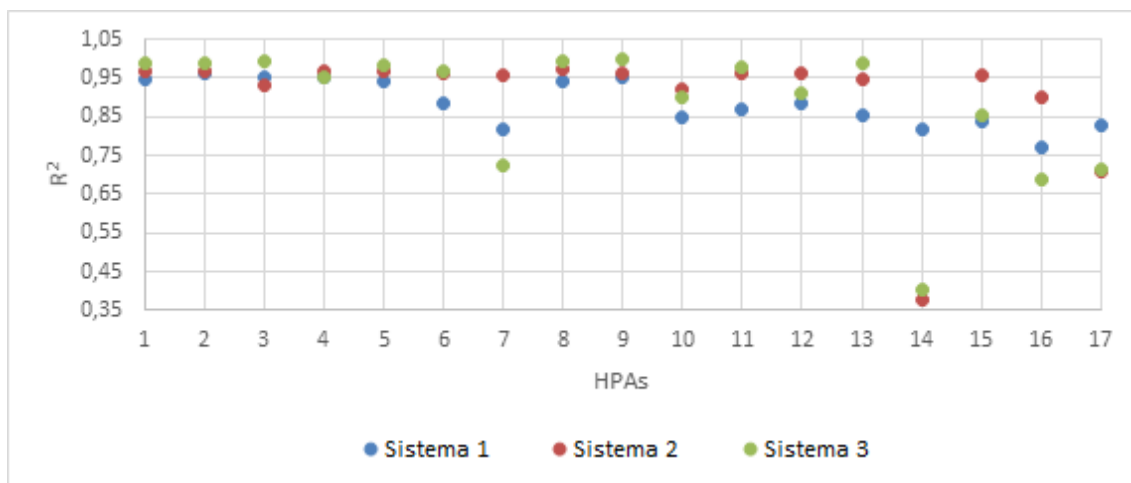


Figura 3.7 - Representação gráfica do coeficiente de determinação em função de cada HPA, para os 3 Sistemas no modo *SRM*.

3.2.3 – Gama de trabalho / Faixa de aplicação

Para a determinação da gama de trabalho utilizou-se como critério a rejeição de valores de *RSD* da média da área e da média de RF superiores a 10%. No entanto, foram consideradas apenas gamas de trabalho para compostos que tivessem um mínimo de quatro pontos na faixa linear.

3.2.3.1 – Sistema 1

Neste sistema não foi possível definir a gama de trabalho, uma vez que o desvio padrão relativo obtido para cada concentração de cada composto, independentemente do método de ionização utilizado, era bastante impreciso, obtendo-se sempre valores de *RSD* para a média das áreas superiores a 10%.

3.2.3.2 – Sistema 2

Relativamente a este sistema, na análise em *Full-Scan* de toda a gama analítica utilizada foi definida a gama de trabalho, com base no critério de rejeição para valores de *RSD* da média da área e da média de RF superiores a 10%. Deste modo, foi inicialmente desprezado da gama de trabalho o ponto correspondente à concentração de 250 ppb para o acenaftileno, fluoreno, benzo(a)pireno e indeno(1,2,3-cd)pireno.

De seguida, determinou-se para cada um dos HPAs a sua gama de trabalho com base na representação gráfica relativamente ao RF em função do logaritmo da concentração (figura 3.8).

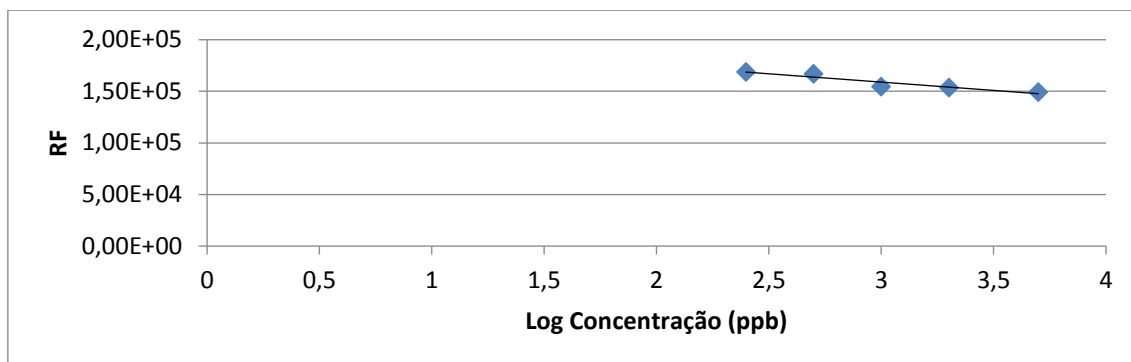


Figura 3.8 - Representação gráfica da faixa linear para o 2-metil-naftaleno, em *Full-Scan* no sistema 2. RF em função do logaritmo da concentração.

Para cada um dos HPAs, definiu-se uma faixa linear com quatro ou cinco pontos. Para tal, foi calculada a média do RF para as cinco concentrações utilizadas, com exclusão das concentrações cujas médias de área apresentavam um desvio padrão relativo superior a 10%, como referido anteriormente (tabela 3.5).

Tabela 3.5 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do 2-metil-naftaleno em *Full-Scan* no sistema 2.

Concentração (ppb)	\bar{X} Área	Log Concentração	RF	\bar{X} RF	σ RF	RSD (%) RF
250	4,22E+07	2,40	168800,00	158633,33	7188,92	4,53
500	8,34E+07	2,70	166866,67	158633,33	5821,85	3,67
1000	1,55E+08	3,00	154500,00	158633,33	2922,71	1,84
2000	3,07E+08	3,30	153666,67	158633,33	3511,96	2,21
5000	7,47E+08	3,70	149333,33	158633,33	6576,09	4,15

Assim, para o 2-metil-naftaleno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(b)fluoranteno e benzo(k)fluoranteno obteve-se uma gama de trabalho de 250 a 5000 ppb, considerando todos os cinco pontos da recta.

Em relação ao 1-metil-naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, benzo(a)antraceno, criseno e benzo(a)pireno foi obtida uma gama de trabalho de 500 a 5000 ppb, com exclusão dos pontos relativos a 250 ppb, considerando quatro pontos da recta.

Para os três compostos que possuem um tempo de retenção mais elevado, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, não foi possível identificar uma gama de trabalho que apresentasse uma fiabilidade considerável relativamente aos valores obtidos, uma vez que para a determinação da mesma foram desprezados pontos que tinham valores de *RSD* superiores a 10%, em relação à média de RF, o que por sua vez, inviabilizou a determinação da faixa linear e faixa de aplicação (tabela 3.6).

Tabela 3.6 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em *Full-Scan* no sistema 2.

HPA	Concentrações da gama de trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Faixa de aplicação	
			Limite inferior (%)	Limite superior (%)
2-metil-naftaleno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	94,14	106,41
1-metil-naftaleno	500; 1000; 2000; 5000	4	94,86	106,75
Acenaftileno	500; 1000; 2000; 5000	4	90,85	102,61
Acenafteno	500; 1000; 2000; 5000	4	94,21	104,46
Fluoreno	500; 1000; 2000; 5000	4	93,87	110,59
Fenantreno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	92,86	108,66
Antraceno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	93,79	109,45
Fluoranteno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	94,37	111,09
Pireno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	94,43	107,43
Benzo(a)antraceno	500; 1000; 2000; 5000	4	95,19	102,25
Criseno	500; 1000; 2000; 5000	4	94,99	103,39
Benzo(b)fluoranteno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	88,47	111,51
Benzo(k)fluoranteno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	88,25	106,44
Benzo(a)pireno	500; 1000; 2000; 5000	4	85,85	113,49
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Para a análise realizada em *SIM*, a gama de trabalho teve que ser ajustada de igual modo, de forma a que os limites de detecção e quantificação estivessem dentro de uma gama de concentrações mais reduzida, mas adequada para os calcular. Deste modo, para todos os HPAs foi desprezado o último ponto do gráfico, com a concentração de 250 ppb, uma vez que se encontrava demasiado afastado dos restantes, para além de se apresentar bastante afastado da gama de trabalho utilizada para detectar e quantificar cada um dos compostos.

Para além desta, houve outras concentrações que foram desprezadas da gama de trabalho e da faixa de aplicação, nomeadamente para o antraceno (40 ppb), benzo(a)antraceno (5 ppb), criseno (5 ppb), benzo(b)fluoranteno (5 ppb), benzo(k)fluoranteno (5 e 30 ppb), indeno (5 e 30 ppb), dibenzo(a,h)antraceno (30 ppb) e benzo(g,h,i)perileno (5 ppb).

Assim, para cada um dos HPAs, foi determinada a sua gama de trabalho com base na representação gráfica relativamente ao RF em função do logaritmo da concentração (figura 3.9).

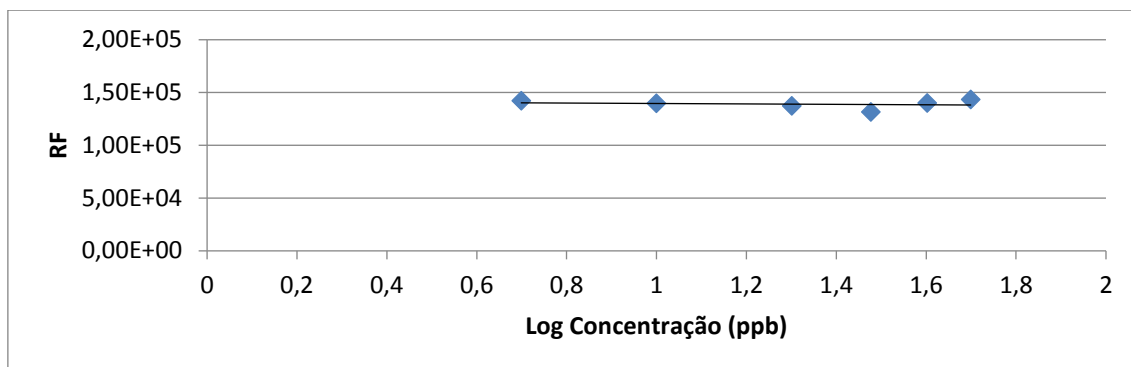


Figura 3.9 - Representação gráfica da faixa linear para o 2-metil-naftaleno em *SIM* no sistema 2. RF em função do logaritmo da concentração.

Para cada um dos HPAs, definiu-se uma faixa linear com quatro, cinco ou seis pontos tendo sido desprezados os pontos que apresentavam um desvio padrão residual da média de RF superior a 10%. Para tal, foi calculada a média do RF para as 6 concentrações utilizadas, com exclusão das concentrações cujas médias de área apresentavam um desvio padrão residual superior a 10%, como referido anteriormente (tabela 3.7).

Tabela 3.7 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do 2-metil-naftaleno em *SIM* no sistema 2.

Concentração (ppb)	\bar{X} Área	Log Concentração	RF	\bar{X} RF	σ RF	RSD (%) RF
5	7,12E+05	0,70	142333,33	139019,44	2343,27	1,69
10	1,40E+06	1,00	139666,67	139019,44	457,66	0,33
20	2,75E+06	1,30	137333,33	139019,44	1192,26	0,86
30	3,94E+06	1,48	131466,67	139019,44	5340,62	3,84
40	5,60E+06	1,60	139916,67	139019,44	634,43	0,46
50	7,17E+06	1,70	143400,00	139019,44	3097,52	2,23

Assim, para o 2-metil-naftaleno, 1-metil-naftaleno, acenafteno, fluoreno, fluoranteno e pireno obteve-se uma gama de trabalho de 5 a 50 ppb, considerando todos os 6 pontos da recta.

Em relação ao acenaftileno, fenantreno, criseno e benzo(b)fluoranteno foi obtida uma gama de trabalho de 5 a 40 ppb para o primeiro, de 5 a 50 ppb (com exclusão do ponto relativo a 10 ppb) para o segundo e de 10 a 50 ppb para os últimos dois, considerando apenas 5 pontos da recta.

No cálculo da gama de trabalho para o indeno(1,2,3-cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno, foram desprezados dois pontos da recta para cada um, tendo sido obtida uma gama de trabalho considerando os pontos correspondentes a 10, 20, 40 e 50 ppb para o primeiro, e 5, 10, 20, 40 ppb para o último.

Para o antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e benzo(g,h,i)perileno não foi possível identificar uma gama de trabalho que apresentasse uma

veracidade considerável relativamente aos valores obtidos, uma vez que para a determinação da mesma foram desprezados pontos que tinham valores de *RSD* superiores a 10%, em relação à média de áreas e à média de RF, o que por sua vez inviabilizou a determinação da faixa linear e faixa de aplicação (tabela 3.8).

Tabela 3.8 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em *SIM* no sistema 2.

HPA	Concentrações da gama de trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Faixa de aplicação	
			Limite inferior (%)	Limite superior (%)
2-metil-naftaleno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	94,57	103,15
1-metil-naftaleno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	94,45	104,11
Acenaftileno	5; 10; 20; 30; 40	5	89,31	109,36
Acenafteno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	96,03	104,18
Fluoreno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	93,93	104,17
Fenantreno	5; 20; 30; 40; 50	5	90,32	104,51
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	90,38	104,16
Pireno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	91,47	104,88
Benzo(a)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Criseno	10; 20; 30; 40; 50	5	89,21	109,97
Benzo(b)fluoranteno	10; 20; 30; 40; 50	5	87,83	109,98
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	10; 20; 40; 50	4	91,12	107,72
Dibenzo(a,h)antraceno	5; 10; 20; 40	4	93,05	108,04
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Para a análise realizada em *SRM*, a gama de trabalho foi de igual modo ajustada. Assim, foram desprezados os pontos correspondentes às concentrações de 1 ppb para o fenantreno e pireno, 1 e 2 ppb para o antraceno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno e indeno(1,2,3-cd)pireno, 1, 2, 5 e 10 ppb para o benzo(k)fluoranteno, 1, 2, 10, 20 ppb para o dibenzo(a,h)antraceno e 1, 2, 10 ppb para o benzo(g,h,i)perileno, uma vez que os valores obtidos de *RSD* da média da área eram superiores a 10%.

Posteriormente, determinou-se para cada um dos HPAs a sua gama de trabalho com base na representação gráfica relativamente ao RF em função do logaritmo da concentração (figura 3.10a).

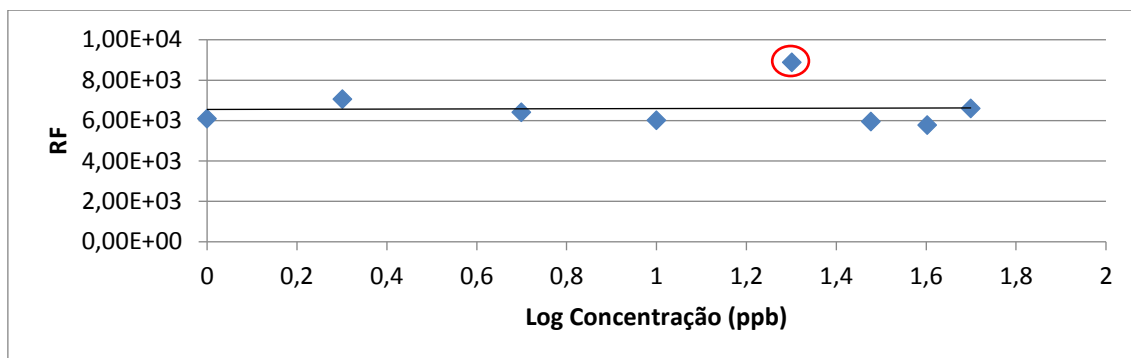


Figura 3.10a - Representação gráfica da faixa linear e para o acenafeno em *SRM* no sistema 2 antes da exclusão do ponto assinalado a vermelho. RF em função do logaritmo da concentração.

Para o acenafeno, uma vez que o ponto correspondente à concentração de 20 ppb, assinalado a vermelho, não respeitava os critérios de consideração de pontos cujos valores de *RSD* relativamente à média das áreas, ou particularmente para este composto, à média dos RF fossem inferiores a 10% (tabela 3.9a), este foi desprezado tendo sido reajustada a faixa linear e recalculados os *RSDs* dos restantes pontos utilizados na elaboração da mesma (figura 3.10b) (tabela 3.9b).

Tabela 3.9a - Cálculo do *RSD* (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do acenafeno em *SRM* no sistema 2.

Concentração (ppb)	\bar{X} Área	Log Concentração	RF	\bar{X} RF	σ RF	<i>RSD</i> (%) RF
1	6,09E+03	0,00	6086,67	6595,54	359,83	5,46
2	1,41E+04	0,30	7064,83	6595,54	331,84	5,03
5	3,21E+04	0,70	6410,67	6595,54	130,72	1,98
10	6,01E+04	1,00	6006,97	6595,54	416,18	6,31
20	1,78E+05	1,30	8875,55	6595,54	1612,21	24,44
30	1,78E+05	1,48	5942,44	6595,54	461,81	7,00
40	2,31E+05	1,60	5778,87	6595,54	577,47	8,76
50	3,30E+05	1,70	6598,31	6595,54	1,96	0,03

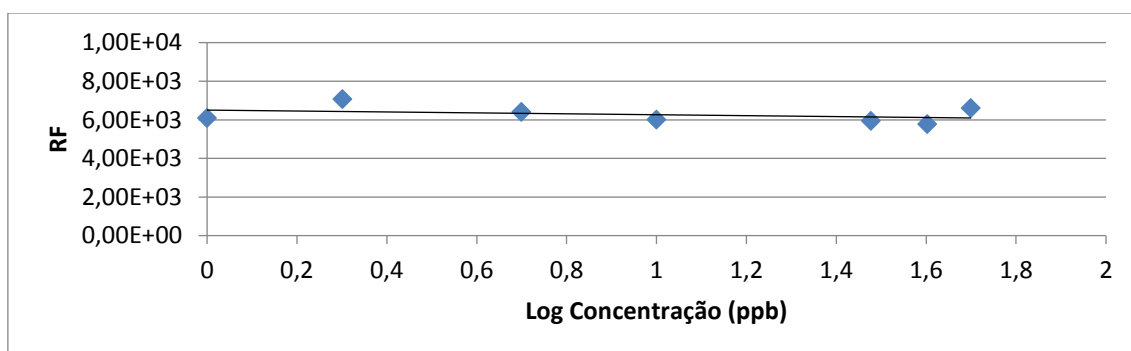


Figura 3.10b - Representação gráfica da faixa linear para o acenafeno em *SRM* no sistema 2 após exclusão do ponto assinalado a vermelho. RF em função do logaritmo da concentração.

Tabela 3.9b - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do acenafteno, após desprezado o ponto assinalado a vermelho na figura 3.10a.

Concentração (ppb)	\bar{X} Área	Log Concentração	RF	\bar{X} RF	σ RF	RSD (%) RF
1	6,09E+03	0,00	6086,67	6269,82	129,51	2,07
2	1,41E+04	0,30	7064,83	6269,82	562,16	8,97
5	3,21E+04	0,70	6410,67	6269,82	99,59	1,59
10	6,01E+04	1,00	6006,97	6269,82	185,87	2,96
30	1,78E+05	1,48	5942,44	6269,82	231,49	3,69
40	2,31E+05	1,60	5778,87	6269,82	347,16	5,54
50	3,30E+05	1,70	6598,31	6269,82	232,28	3,70

De igual modo, para cada um dos HPAs, definiu-se uma faixa linear entre quatro a sete pontos tendo sido desprezados os pontos que apresentavam um desvio padrão residual da média de RF superior a 10%. Para tal, foi calculada a média do RF para as sete concentrações utilizadas, com exclusão das concentrações cujas médias de área apresentavam um desvio padrão residual superior a 10%, como referido anteriormente.

Assim, para o acenafteno (tabela 3.9b), fluoreno e fluoranteno, obteve-se uma gama de trabalho de 1 a 50 ppb, considerando todos os sete pontos da recta.

Para o 2-metil-naftaleno e 1-metil-naftaleno foram desprezadas as concentrações de 2 ppb, e para o pireno foi desprezada a concentração de 1 ppb, obtendo-se uma gama de trabalho considerando seis pontos da recta.

Relativamente ao fenantreno, foi obtida uma gama de trabalho entre 5 a 50 ppb, considerando cinco pontos da recta, excluindo os pontos relativos a 1, 2 e 20 ppb.

Para o benzo(b)fluoranteno, a gama de trabalho obtida esteve compreendida entre 5 a 40 ppb, considerando quatro pontos da recta, tendo sido desprezadas as concentrações de 1, 2, 20 e 50 ppb.

Para o antraceno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, não foi possível identificar uma gama de trabalho que apresentasse valores fidedignos, uma vez que para a determinação da mesma foram desprezados pontos que tinham valores de *RSD* superiores a 10%, em relação à média de RF, impossibilitando a determinação da faixa linear e faixa de aplicação (tabela 3.10).

Tabela 3.10 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em SRM no sistema 2.

HPA	Concentrações da gama de trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Faixa de aplicação	
			Limite inferior (%)	Limite superior (%)
2-metil-naftaleno	1; 5; 10; 30; 40; 50	6	89,70	111,43
1-metil-naftaleno	1; 5; 10; 30; 40; 50	6	91,04	109,87
Acenaftileno	1; 5; 10; 30; 50	5	89,94	105,21
Acenafteno	1; 2; 5; 10; 30; 40; 50	7	92,17	112,68

Fluoreno	1; 2 ; 5; 10; 30; 40; 50	7	91,62	116,48
Fenantreno	5; 10; 30; 40; 50	5	88,95	113,54
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	1; 2 ; 5; 10; 30; 40; 50	7	94,01	107,59
Pireno	2 ; 5; 10; 30; 40; 50	6	93,59	109,98
Benzo(a)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Criseno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(b)fluoranteno	5; 10; 30; 40	4	92,89	112,24
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

3.2.3.3 – Sistema 3

Relativamente a este sistema, na análise em *Full-Scan* de toda a gama analítica utilizada foi estabelecida a gama de trabalho, com base no mesmo critério de rejeição referido anteriormente. Porém, esta só foi possível de definir para o 1-metil-naftaleno e para o fluoreno, uma vez que todos os restantes compostos apresentavam vários pontos da sua gama analítica, cujos respectivos *RSD* da média de RF eram superiores a 10%. Deste modo, obteve-se uma gama de trabalho para o 1-metil-naftaleno de 500 a 5000 ppb e para o acenaftileno de 250 a 2000 ppb, considerando quatro pontos da recta para ambos (tabela 3.11).

Tabela 3.11 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em *Full-Scan* no sistema 3.

HPA	Concentrações da gama de trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Faixa de aplicação	
			Limite inferior (%)	Limite superior (%)
2-metil-naftaleno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1-metil-naftaleno	500; 1000; 2000; 5000	4	87,91	110,62
Acenaftileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Acenafteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoreno	250; 500; 1000; 2000;	4	87,59	112,91
Fenantreno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Criseno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(b)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Na análise realizada em *SIM*, a gama de trabalho foi ajustada, tal como referido anteriormente para o mesmo método de análise no sistema 2, de forma a que os limites de detecção e quantificação estivessem dentro de uma gama de concentrações mais reduzida, mas adequada para os calcular. Desta forma, desprezou-se para todos os compostos o último ponto do gráfico, correspondente à concentração de 250 ppb, uma vez que se encontrava excessivamente afastado dos restantes, para além de se apresentar bastante afastado da gama de trabalho utilizada para detectar e quantificar cada um dos HPAs.

Para além deste, foram também desprezados os pontos correspondentes às concentrações de 5 ppb para o 1-metil-naftaleno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno e benzo(k)fluoranteno, de 10 ppb para o indeno(1,2,3-cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno, de 5 e 10 ppb para o benzo(g,h,i)perileno e de 5, 10 e 30 ppb para o benzo(a)pireno, uma vez que os valores obtidos de *RSD* da média da área eram superiores a 10%.

Posteriormente, determinou-se para cada um dos HPAs a sua gama de trabalho através da representação gráfica relativamente ao RF em função do logaritmo da concentração (figura 13).

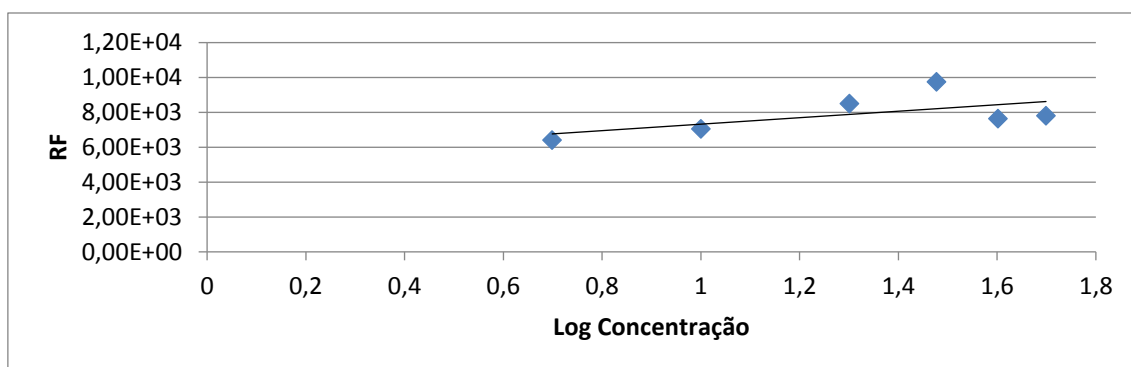


Figura 3.11 - Representação gráfica da faixa linear para o fenantreno em *SIM* no sistema 3. RF em função do logaritmo da concentração.

Para cada um dos HPAs, definiu-se uma faixa linear com quatro, cinco ou seis pontos tendo sido desprezados os pontos que apresentavam um *RSD* da média de RF superior a 10%. Para tal, foi calculada a média do RF para as seis concentrações utilizadas, com exclusão das concentrações cujas médias de área apresentavam um desvio padrão residual superior a 10%, como referido anteriormente (tabela 3.12).

Tabela 3.12 - Cálculo do RSD (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do fenantreno em *SIM* no sistema 3.

Concentração (ppb)	\bar{X} Área	Log Concentração	RF	\bar{X} RF	σ RF	RSD (%) RF
5	8,04E+05	0,70	160721,40	153310,51	5240,29	3,42
10	1,62E+06	1,00	161666,67	153310,51	5908,69	3,85
20	2,87E+06	1,30	143250,00	153310,51	7113,86	4,64
30	4,39E+06	1,48	146166,67	153310,51	5051,46	3,29
40	5,41E+06	1,60	135125,00	153310,51	12859,10	8,39
50	8,65E+06	1,70	172933,33	153310,51	13875,43	9,05

Assim, para o fenantreno consideraram-se todos os seis pontos da recta, obtendo-se uma gama de trabalho entre 5 a 50 ppb.

Para o 2-metil-naftaleno, acenafteno e fluoreno desprezou-se o ponto relativo a 50 ppb, obtendo-se uma gama de trabalho entre os 5 e os 40 ppb, para o acenaftileno obteve-se uma gama de trabalho entre os 5 e os 50 ppb (com exclusão do ponto relativo a 40 ppb) e para o pireno obteve-se uma gama de trabalho entre os 5 e os 50 ppb (com exclusão do ponto relativo a 20 ppb), considerando cinco pontos da recta.

Para o 1-metil-naftaleno, obteve-se uma gama de trabalho entre os 20 e 50 ppb, para o benzo(a)antraceno e criseno, a gama de trabalho ficou compreendida entre os 10 e 50 ppb (com exclusão do ponto relativo a 40 ppb) e para o benzo(b)fluoranteno, a gama de trabalho ficou compreendida entre os 10 e os 40 ppb, considerando-se deste modo quatro pontos da recta. No entanto, para o antraceno apesar de se ter obtido uma gama de trabalho considerando quatro pontos obtidos, relativos a 5, 20, 30 e 50 ppb, a gama de trabalho não foi definida, uma vez que a faixa de aplicação, na qual se assumem valores entre 80 a 120% da faixa linear, esteve compreendida entre os 109,65 e os 133,17% (tabela 3.13, assinalado a vermelho).

Relativamente ao fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, não foi possível determinar a gama de trabalho fidedigna, uma vez que na determinação da mesma foram excluídos pontos que tinham valores de *RSD* superiores a 10%, em relação à média de RF, o que impossibilitou a determinação da faixa linear e faixa de aplicação.

Tabela 3.13 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em *SIM* no sistema 3.

HPA	Concentrações da gama de trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Faixa de aplicação	
			Limite inferior (%)	Limite superior (%)
2-metil-naftaleno	5; 10; 20; 30; 40	5	90,70	119,10
1-metil-naftaleno	20; 30; 40; 50	4	92,90	113,42
Acenaftileno	5; 10; 20; 30; 50	5	92,37	108,70
Acenafteno	5; 10; 20; 30; 40	5	92,19	111,48
Fluoreno	5; 10; 20; 30; 40	5	91,81	108,73

Fenantreno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	88,14	112,80
Antraceno	N.D.	N.D.	109,65	133,17
Fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pireno	5; 10; 30; 40; 50	5	86,29	108,95
Benzo(a)antraceno	10; 20; 30; 50	4	92,96	115,14
Criseno	10; 20; 30; 50	4	93,59	110,79
Benzo(b)fluoranteno	10; 20; 30; 40	4	96,40	103,68
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Na análise realizada em *SRM*, a gama de trabalho teve também que ser ajustada, tendo sido desprezado o último ponto do gráfico, correspondente à concentração de 50 ppb, uma vez que o *RSD* da média das áreas apresentava valores superiores aos 10%.

Para além deste, foram desprezados com base no mesmo critério os pontos correspondentes à concentração de 5 ppb para o 2-metil-naftaleno e 1-metil-naftaleno, 2 ppb para o antraceno, 1 e 10 ppb para o fluoranteno, 1 ppb para o pireno e benzo(a)antraceno, 1, 2 e 10 ppb para o benzo(k)fluoranteno e indeno(1,2,3-cd)pireno, 1, 2 e 5 ppb para o benzo(a)pireno, 1, 2, 5 e 20 ppb para o benzo(g,h,i)perileno e todos os pontos para o dibenzo(a,h)antraceno.

De seguida, determinou-se para cada um dos HPAs a sua gama de trabalho através da representação gráfica relativamente ao RF em função do logaritmo da concentração (figura 3.12).

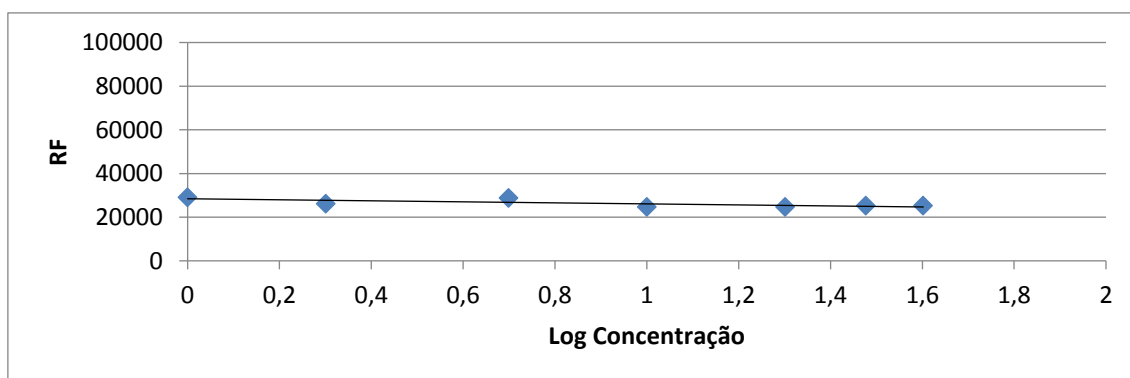


Figura 3.12 - Representação gráfica da faixa linear para o fenantreno em *SRM* no sistema 3. RF em função do logaritmo da concentração.

Para cada um dos HPAs, definiu-se uma faixa linear entre cinco a sete pontos tendo sido desprezados os pontos que apresentavam um *RSD* da média de RF superior a 10%. Para tal, foi calculada a média do RF para as sete concentrações utilizadas, com exclusão das concentrações

cujas médias das áreas apresentavam um desvio padrão residual superior a 10%, como referido anteriormente, a partir da qual se calculou o *RSD* (tabela 3.14).

Tabela 3.14 - Cálculo do *RSD* (%) do RF para cada concentração utilizada na representação da faixa linear do fenantreno em *SRM* no sistema 3.

Concentração (ppb)	\bar{X} Área	Log Concentração	RF	\bar{X} RF	σ RF	<i>RSD</i> (%) RF
1	2,92E+04	0,00	29158,00	26294,33	2024,92	7,70
2	5,24E+04	0,30	26181,00	26294,33	80,14	0,30
5	1,44E+05	0,70	28811,13	26294,33	1779,65	6,77
10	2,48E+05	1,00	24760,15	26294,33	1084,83	4,13
20	4,93E+05	1,30	24659,98	26294,33	1155,67	4,40
30	7,58E+05	1,48	25278,53	26294,33	718,28	2,73
40	1,01E+06	1,60	25211,54	26294,33	765,65	2,91

Assim, para o fluoreno, tal como para o acenafteno e criseno, consideraram-se sete pontos da recta, obtendo-se uma gama de trabalho entre 1 a 40 ppb.

No caso do pireno e do benzo(b)fluoranteno, foram considerados seis pontos da recta, com exclusão do ponto correspondente à concentração de 1 ppb, obtendo-se uma gama de trabalho entre 2 a 40 ppb.

Relativamente ao 2-metil-naftaleno, 1-metil-naftaleno, fenantreno, fluoranteno, benzo(a)antraceno e acenaftileno, foram considerados cinco pontos da recta. Para os dois primeiros, excluíram-se os pontos correspondentes às concentrações de 1 e 5 ppb, obtendo-se uma gama de trabalho entre 2 a 40 ppb. Para o fenantreno e fluoranteno, desprezaram-se os pontos correspondentes a 1 e 10 ppb, obtendo-se de igual modo uma gama de trabalho entre 2 a 40 ppb. Em relação ao benzo(a)antraceno, a gama de trabalho esteve compreendida entre os 5 e os 40 ppb, tendo sido desprezados os pontos correspondentes à concentração de 2 ppb. Já o acenaftileno teve como desprezados os pontos correspondentes às concentrações de 5 e 40 ppb, obtendo-se uma gama de trabalho compreendida entre os 1 e 30 ppb.

Em relação ao antraceno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, não foi possível determinar uma gama de trabalho fidedigna, uma vez que na determinação da mesma foram excluídos pontos que tinham valores de *RSD* superiores a 10%, em relação à média de RF, o que impossibilitou a determinação da faixa linear e faixa de aplicação (tabela 3.15).

Tabela 3.15 - Gama de trabalho e faixa de aplicação determinadas para todos os HPAs na análise realizada em *SRM* no sistema 3.

HPA	Concentrações da gama de trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Faixa de aplicação	
			Limite inferior (%)	Limite superior (%)
2-metil-naftaleno	2; 10; 20; 30; 40	5	89,38	101,26

1-metil-naftaleno	2; 10; 20; 30; 40	5	96,86	108,41
Acenaftileno	1; 2; 10; 20; 30	5	93,14	110,74
Acenafteno	1; 2; 5; 10; 20; 30; 40	7	90,24	111,22
Fluoreno	1; 2; 5; 10; 20; 30; 40	7	93,78	110,89
Fenantreno	2; 5; 20; 30; 40	5	90,37	109,10
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	2; 5; 20; 30; 40	5	90,96	108,31
Pireno	2; 5; 10; 20; 30; 40	6	96,28	107,22
Benzo(a)antraceno	5; 10; 20; 30; 40	5	92,59	106,58
Criseno	1; 2; 5; 10; 20; 30; 40	7	86,08	112,81
Benzo(b)fluoranteno	2; 5; 10; 20; 30; 40	6	86,99	113,94
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

3.2.4 – LOD / LOQ

Para cada um dos três métodos de ionização empregues nos sistemas 2 e 3, foram calculados os limites de detecção e quantificação para cada HPA, através do método da curva analítica. Para tal, foram consideradas apenas as concentrações que se enquadravam na gama de trabalho, tendo sido desprezadas aquelas cujos *RSDs* obtidos continham valores acima dos 10%, como referido anteriormente.

3.2.4.1 – Sistema 2

Para este sistema, na análise em *Full-Scan* foram calculados os respectivos *LODs* e *LOQs* para os seguintes HPAs (tabela 3.16).

Tabela 3.16 - *LOD* e *LOQ* determinados para os HPAs na análise realizada em *Full-Scan* no sistema 2.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)	N° (# de pontos)	Equação da recta	R ²	S	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
2-metil-naftaleno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	y = 148002x + 8E+06	0,9999	2,89E+06	64,42	195,20
1-metil-naftaleno	500; 1000; 2000; 5000	4	y = 152313x + 1E+07	0,9994	9,85E+06	213,44	646,78
Acenaftileno	500; 1000; 2000; 5000	4	y = 159222x + 2E+07	0,9997	7,48E+06	155,00	469,70
Acenafteno	500; 1000; 2000; 5000	4	y = 183477x + 2E+07	0,9996	9,09E+06	163,50	495,44
Fluoreno	500; 1000; 2000; 5000	4	y = 172178x + 1E+07	0,9997	7,48E+06	143,35	434,40
Fenantreno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	y = 170906x + 1E+07	0,9995	8,85E+06	170,95	518,03
Antraceno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	y = 156993x + 9E+06	0,9994	8,46E+06	177,73	538,59
Fluoranteno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	y = 155673x + 8E+06	0,9994	8,44E+06	178,93	542,20
Pireno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	y = 175104x + 9E+06	0,9998	5,77E+06	108,82	329,76

Benzo(a)antraceno	500; 1000; 2000; 5000	4	$y = 134659x - 5E+06$	0,9998	4,81E+06	117,84	357,10
Criseno	500; 1000; 2000; 5000	4	$y = 149626x - 5E+06$	0,9997	6,42E+06	141,70	429,40
Benzo(b)fluoranteno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	$y = 122657x - 5E+06$	0,9990	8,66E+06	232,87	705,68
Benzo(k)fluoranteno	250; 500; 1000; 2000; 5000	5	$y = 133036x - 1E+07$	0,9989	9,90E+06	245,58	744,19
Benzo(a)pireno	500; 1000; 2000; 5000	4	$y = 127818x - 2E+07$	0,9987	1,24E+07	319,54	968,31
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Após análise da tabela 3.16, é possível verificar que alguns dos *LOQs* calculados não estão dentro da gama de trabalho utilizada na sua determinação. Deste modo, para o 2-metil-naftaleno, fluoreno, benzo(a)antraceno e criseno, estão identificados a vermelho os seus respectivos *LOQs*, uma vez que não foi possível a determinação dos seus limites de detecção e quantificação.

Para o acenaftileno e acenafteno, os respectivos *LOQs* estão assinalados a laranja, uma vez que o seu valor corresponde a menos de 10% do limiar da gama de trabalho utilizada, sendo deste modo considerados válidos os valores obtidos.

De igual forma, determinaram-se os *LODs* e *LOQs* na análise realizada em *SIM* e *SRM*, para os seguintes HPAs (tabelas 3.17 e 3.18, respectivamente).

Tabela 3.17 - *LOD* e *LOQ* determinados para os HPAs na análise realizada em *SIM* no sistema 2.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Equação da recta	R ²	S	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
2-metil-naftaleno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	$y = 142048x - 75306$	0,9971	1,48E+05	3,45	10,44
1-metil-naftaleno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	$y = 149642x - 47863$	0,9977	1,39E+05	3,06	9,28
Acenaftileno	5; 10; 20; 30; 40;	5	$y = 149642x - 47863$	0,9893	7,61E+04	5,67	17,18
Acenafteno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	$y = 79514x - 30695$	0,9952	1,08E+05	4,46	13,53
Fluoreno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	$y = 63090x - 42893$	0,9961	7,72E+04	4,04	12,24
Fenantreno	5; 20; 30; 40; 50	5	$y = 105299x - 121519$	0,9858	2,55E+05	8,00	24,24
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	$y = 41624x - 35349$	0,9918	7,37E+04	5,84	17,70
Pireno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	$y = 46170x - 21590$	0,9927	7,72E+04	5,52	16,73
Benzo(a)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Criseno	10; 20; 30; 40; 50	5	$y = 59636x - 104545$	0,9760	1,71E+05	9,45	28,63
Benzo(b)fluoranteno	10; 20; 30; 40; 50	5	$y = 30219x - 62117$	0,9791	8,06E+04	8,81	26,69
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	10; 20; 40; 50	4	$y = 7643,3x - 8580$	0,9890	1,80E+04	7,79	23,61
Dibenzo(a,h)antraceno	5; 10; 20; 40	4	$y = 9288,8x - 11260$	0,9940	1,37E+04	4,86	14,73
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Tabela 3.18 - *LOD* e *LOQ* determinados para os HPAs na análise realizada em *SRM* no sistema 2.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Equação da recta	R ²	S	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
2-metil-naftaleno	1; 5; 10; 30; 40; 50	6	$y = 30820x + 4273,9$	0,9959	4,48E+04	4,79	14,53
1-metil-naftaleno	1; 5; 10; 30; 40; 50	6	$y = 33615x + 10682$	0,9970	4,14E+04	4,06	12,30
Acenaftileno	1; 5; 10; 30; 50	5	$y = 14762x - 12255$	0,9919	3,16E+04	7,07	21,41
Acenafteno	1; 2; 5; 10; 30; 40; 50	7	$y = 6265x - 1841,7$	0,9923	1,21E+04	6,39	19,36
Fluoreno	1; 2; 5; 10; 30; 40; 50	7	$y = 16282x - 5007,7$	0,9950	2,53E+04	5,12	15,51
Fenantreno	5; 10; 30; 40; 50	5	$y = 4432,7x - 4945,9$	0,9722	1,67E+04	12,40	37,58
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	1; 2; 5; 10; 30; 40; 50	7	$y = 9743,3x - 5765,7$	0,9956	1,42E+04	4,81	14,58
Pireno	2; 5; 10; 30; 40; 50	6	$y = 11775x - 9680,9$	0,9910	2,51E+04	7,04	21,33
Benzo(a)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Criseno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(b)fluoranteno	5; 10; 30; 40	4	$y = 1437,7x - 2217,6$	0,9948	2,10E+03	4,83	14,63
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Após análise das tabelas 3.17 e 3.18, verifica-se que para todos os HPAs em que foi possível a determinação dos *LODs* e *LOQs*, uma vez que nos restantes compostos não foi possível definir uma gama de trabalho em que se verificasse uma linearidade da mesma, por fundamentos anteriormente descritos, o valor obtido relativamente ao *LOQ* está dentro da gama de trabalho definida, sendo deste modo considerados válidos todos os *LODs* e *LOQs* dos HPAs em que foi possível a sua determinação.

3.2.4.2 – Sistema 3

De igual modo, foram determinados para este sistema, na análise em *Full-Scan* os respectivos *LODs* e *LOQs* para os seguintes HPAs (tabela 3.19).

Tabela 3.19 - *LOD* e *LOQ* determinados para os HPAs na análise realizada em *Full-Scan* no sistema 3.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Equação da recta	R ²	S	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
2-metil-naftaleno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
1-metil-naftaleno	500; 1000; 2000; 5000	4	$y = 141928x - 1E+07$	0,9998	6,31E+06	146,76	444,74
Acenaftileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Acenafteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoreno	250; 500; 1000; 2000;	4	$y = 169483x - 1E+07$	0,9985	9,26E+06	180,35	546,53

Fenantreno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Criseno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(b)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

A partir da tabela 3.19, verifica-se que só para o 1-metil-naftaleno e fluoreno foi possível determinar os *LODs* e *LOQs*. No entanto, o valor obtido de *LOQ* para o primeiro não se encontra dentro da gama de trabalho utilizada na sua determinação, estando deste modo representado a vermelho.

Da mesma forma, determinaram-se os *LODs* e *LOQs* para os HPAs, a partir da análise realizada no modo *SIM* (tabela 3.20).

Tabela 3.20 - *LOD* e *LOQ* determinados para os HPAs na análise realizada em *SIM* no sistema 3.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)	N° (# de pontos)	Equação da recta	R ²	S	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
2-metil-naftaleno	5; 10; 20; 30; 40	5	y = 160941x - 104096	0,9947	1,94E+05	3,98	12,07
1-metil-naftaleno	20; 30; 40; 50	4	y = 216250x - 1E+06	0,9596	7,56E+05	11,54	34,96
Acenaftileno	5; 10; 20; 30; 50	5	y = 59663x + 34231	0,9907	1,20E+05	6,61	20,03
Acenafteno	5; 10; 20; 30; 40	5	y = 91344x - 3677,6	0,9837	1,94E+05	7,02	21,27
Fluoreno	5; 10; 20; 30; 40	5	y = 80954x - 49810	0,9953	9,20E+04	3,75	11,37
Fenantreno	5; 10; 20; 30; 40; 50	6	y = 160932x - 203762	0,9634	6,12E+05	12,55	38,03
Antraceno	5; 20; 30; 50	4	y = 94240x - 154599	0,9836	2,82E+05	9,86	29,87
Fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Pireno	5; 10; 30; 40; 50	5	y = 89851x - 112296	0,9852	2,45E+05	8,98	27,22
Benzo(a)antraceno	10; 20; 30; 50	4	y = 78090x - 302872	0,9893	1,70E+05	7,19	21,79
Criseno	10; 20; 30; 50	4	y = 131781x - 386476	0,9931	2,30E+05	5,77	17,49
Benzo(b)fluoranteno	10; 20; 30; 40	4	y = 38034x + 40606	0,9984	2,41E+04	2,09	6,33
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Considerando a tabela 3.20, verifica-se particularmente para o benzo(b)fluoranteno que o *LOQ* obtido, assinalado a vermelho, não se encontra dentro da gama de trabalho utilizada na quantificação do respectivo limite. Desta forma, conclui-se que para este composto, não foi possível a determinação do seu *LOD* e *LOQ*.

Posteriormente, determinaram-se os *LODs* e *LOQs* para os HPAs, após a análise realizada no modo *SRM* (tabela 3.21).

Tabela 3.21 - *LOD* e *LOQ* determinados para os HPAs na análise realizada em *SRM* no sistema 3.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)	N' (# de pontos)	Equação da recta	R ²	S	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
2-metil-naftaleno	2; 10; 20; 30; 40	5	$y = 40695x + 6275,2$	0,9994	1,70E+04	1,38	4,19
1-metil-naftaleno	2; 10; 20; 30; 40	5	$y = 42303x + 3877,5$	0,9997	1,31E+04	1,02	3,10
Acenaftileno	1; 2; 10; 20; 30	5	$y = 20845x + 6817,5$	0,9998	4,31E+03	0,68	2,07
Acenafteno	1; 2; 5; 10; 20; 30; 40	7	$y = 9729,6x + 5736,3$	0,9945	1,19E+04	4,04	12,26
Fluoreno	1; 2; 5; 10; 20; 30; 40	7	$y = 25016x + 4502,6$	0,9995	9,18E+03	1,21	3,67
Fenantreno	2; 5; 20; 30; 40	5	$y = 7928,6x - 1023,5$	0,9992	4,20E+03	1,75	5,30
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	2; 5; 20; 30; 40	5	$y = 21823x - 3906,6$	0,9986	1,54E+04	2,33	7,07
Pireno	2; 5; 10; 20; 30; 40	6	$y = 23117x + 8247,6$	0,9993	1,01E+04	1,44	4,37
Benzo(a)antraceno	5; 10; 20; 30; 40	5	$y = 3506,5x + 364,54$	0,9923	5,12E+03	4,82	14,59
Criseno	1; 2; 5; 10; 20; 30; 40	7	$y = 9464,3x - 7752,4$	0,9926	1,35E+04	4,69	14,22
Benzo(b)fluoranteno	2; 5; 10; 20; 30; 40	6	$y = 2232,3x - 2583$	0,9946	2,75E+03	4,07	12,34
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Após análise da tabela 3.21, conclui-se que todos os *LOQs* e *LODs*, para os compostos em que foi possível a sua determinação, estão válidos, uma vez que se encontram dentro da gama de trabalho utilizada.

Após determinados os *LODs* e *LOQs* para todos os métodos de ionização utilizados e em ambos os sistemas, procedeu-se a uma comparação dos respectivos limites no método *SIM* para ambos os sistemas (tabela 3.22).

Tabela 3.22 - Comparação entre os *LODs* e *LOQs* obtidos em *SIM* nos sistemas 2 e 3.

HPA	N' (# de pontos)		R ²		LOD (ppb)		LOQ (ppb)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
2-metil-naftaleno	6	5	0,9971	0,9947	3,45	3,98	10,44	12,07
1-metil-naftaleno	6	4	0,9977	0,9596	3,06	11,54	9,28	34,96

Acenaftileno	5	5	0,9893	0,9907	5,67	6,61	17,18	20,03
Acenafteno	6	5	0,9952	0,9837	4,46	7,02	13,53	21,27
Fluoreno	6	5	0,9961	0,9953	4,04	3,75	12,24	11,37
Fenantreno	5	6	0,9858	0,9634	8,00	12,55	24,24	38,03
Antraceno	N.D.	4	N.D.	0,9836	N.D.	9,86	N.D.	29,87
Fluoranteno	6	N.D.	0,9918	N.D.	5,84	N.D.	17,70	N.D.
Pireno	6	5	0,9927	0,9852	5,52	8,98	16,73	27,22
Benzo(a)antraceno	N.D.	4	N.D.	0,9893	N.D.	7,19	N.D.	21,79
Criseno	5	4	0,9760	0,9931	9,45	5,77	28,63	17,49
Benzo(b)fluoranteno	5	4	0,9791	0,9984	8,81	2,09	26,69	6,33
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	4	N.D.	0,9890	N.D.	7,79	N.D.	23,61	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	4	N.D.	0,9940	N.D.	4,86	N.D.	14,73	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Após análise da tabela 3.22, é possível observar assinalado a verde, numa comparação entre os sistemas 2 e 3 para o método *SIM*, o maior valor de coeficiente de determinação, o menor valor de *LOD* e o menor valor de *LOQ*.

Deste modo, verifica-se que o coeficiente de determinação está relacionado com a linearidade do sistema.

No que respeita os *LODs* e *LOQs*, verifica-se que o coeficiente de determinação está relacionado, sendo estes tanto menores quanto maior for o valor do coeficiente. Porém, para o acenaftileno observa-se que o sistema 3 tem um coeficiente de determinação maior, mas o *LOD* e *LOQ* mais baixos estão referentes ao sistema 2. O mesmo se verifica para o fluoreno, no qual o sistema 2 tem um coeficiente de determinação maior, mas o *LOD* e *LOQ* mais baixos estão referentes ao sistema 3.

Assim, de forma a se conseguir estabelecer um paralelismo entre ambos os sistemas, foram consideradas as mesmas gamas de trabalho e, por sua vez, o mesmo número de pontos utilizados, para os HPAs em que foi possível realizar uma comparação entre os dois sistemas (tabela 3.23).

Tabela 3.23 - Ajuste das gamas de trabalho e respectivo número de pontos no método *SIM*, entre os sistemas 2 e 3.

HPA	N' (# de pontos)		R ²		LOD (ppb)		LOQ (ppb)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
2-metil-naftaleno	5	5	0,9972	0,9947	2,87	3,98	8,70	12,07
1-metil-naftaleno	4	4	0,9958	0,9596	3,39	11,54	10,28	34,96
Acenaftileno	5	5	0,9894	0,9907	7,06	6,61	21,38	20,03

Acenafteno	5	5	0,9996	0,9837	1,04	7,02	3,14	21,27
Fluoreno	5	5	0,9962	0,9953	3,35	3,75	10,15	11,37
Fenantreno	5	5	0,9858	0,9583	8,00	13,88	24,24	42,06
Pireno	5	5	0,9925	0,9852	6,36	8,98	19,28	27,22
Criseno	4	4	0,9781	0,9931	10,32	5,77	31,27	17,49

Após análise da tabela 3.23, na qual foram considerados os mesmos pontos em ambos os sistemas, estando a azul identificados os pontos para cada composto que sofreram uma alteração com base nos pontos utilizados no sistema homólogo, verifica-se para todos os HPAs que a linearidade do sistema está directamente relacionada com os valores de *LOD* e *LOQ* obtidos. Assim, com base na tabela, admite-se que quanto maior for o coeficiente de determinação de um composto, menor será o seu respectivo *LOD* e *LOQ*.

Comparativamente, entre os sistemas 2 e 3 no método *SIM*, verifica-se ainda que para os oito HPAs em que foi possível realizar um ajuste da gama de trabalho, com base no seu sistema homólogo, o sistema 2 permite obter, em 75% dos compostos, valores mais baixos de *LODs* e *LOQs*, e por sua vez, valores mais elevados de coeficientes de determinação.

De igual modo, realizou-se uma comparação dos respectivos limites de detecção e quantificação no método *SRM* para ambos os sistemas (tabela 3.24).

Tabela 3.24 - Comparação entre os *LODs* e *LOQs* obtidos em *SRM* nos sistemas 2 e 3.

HPA	N' (# de pontos)		R ²		LOD (ppb)		LOQ (ppb)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
2-metil-naftaleno	6	5	0,9959	0,9994	4,79	1,38	14,53	4,19
1-metil-naftaleno	6	5	0,9970	0,9997	4,06	1,02	12,30	3,10
Acenaftileno	5	5	0,9919	0,9998	7,07	0,68	21,41	2,07
Acenafteno	7	7	0,9923	0,9945	6,39	4,04	19,36	12,26
Fluoreno	7	7	0,9950	0,9995	5,12	1,21	15,51	3,67
Fenantreno	5	5	0,9722	0,9992	12,40	1,75	37,58	5,30
Antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fluoranteno	7	5	0,9956	0,9986	4,81	2,33	14,58	7,07
Pireno	6	6	0,9910	0,9993	7,04	1,44	21,33	4,37
Benzo(a)antraceno	N.D.	5	N.D.	0,9923	N.D.	4,82	N.D.	14,59
Criseno	N.D.	7	N.D.	0,9926	N.D.	4,69	N.D.	14,22
Benzo(b)fluoranteno	4	6	0,9948	0,9946	4,83	4,07	14,63	12,34
Benzo(k)fluoranteno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(a)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Benzo(g,h,i)perileno	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. não pode ser determinado

Após análise da tabela 3.24, é possível observar assinalado a verde, numa comparação entre os sistemas 2 e 3 no método *SRM*, o maior valor de coeficiente de determinação, o menor valor de *LOD* e o menor valor de *LOQ*.

De igual modo, verifica-se para este método que o coeficiente de determinação está relacionado com a linearidade do sistema, tal como referido anteriormente.

No que respeita os *LODs* e *LOQs*, verifica-se tal como no método *SIM*, que o coeficiente de determinação está directamente relacionado, sendo estes tanto menores quanto maior for o valor do coeficiente. No entanto, para o benzo(b)fluoranteno observa-se que o sistema 2 tem um coeficiente de determinação ligeiramente maior, na ordem dos 0,02%, mas o *LOD* e *LOQ* mais baixos estão referentes ao sistema 3.

Assim, de forma a se conseguir estabelecer um paralelismo entre ambos os sistemas, foram consideradas as mesmas gamas de trabalho e, por sua vez, o mesmo número de pontos utilizados, para os HPAs em que foi possível realizar uma comparação entre os dois sistemas (tabela 3.25).

Tabela 3.25 - Ajuste das gamas de trabalho e respectivo número de pontos no método *SRM*, entre os sistemas 2 e 3.

HPA	Gama de Trabalho (ppb)		N' (# de pontos)		R ²		LOD (ppb)		LOQ (ppb)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
Acenafteno	1; 2; 5; 10; 30; 40	1; 2; 5; 10; 30; 40	6	6	0,9996	0,9945	1,17	4,51	3,55	13,67
Fluoreno	1; 2; 5; 10; 30; 40	1; 2; 5; 10; 30; 40	6	6	0,9993	0,9997	1,56	1,06	4,74	3,23
Fluoranteno	2; 5; 30; 40;	2; 5; 30; 40	4	4	0,9962	0,9988	4,63	2,63	14,04	7,97
Pireno	2; 5; 10; 30; 40;	2; 5; 10; 30; 40	5	5	0,9994	0,9994	1,55	1,54	4,69	4,68
Benzo(b)fluoranteno	5; 10; 30; 40	5; 10; 30; 40	4	4	0,9948	0,9955	4,83	4,49	14,63	13,62

Após análise da tabela 3.25, na qual foram considerados os mesmos pontos em ambos os sistemas, estando a azul identificadas as concentrações utilizadas, verifica-se que para todos os HPAs que a linearidade do sistema está directamente relacionada com os valores de *LOD* e *LOQ* obtidos. Assim, com base na tabela, assume-se que quanto maior for o coeficiente de determinação de um composto, menor será o seu respectivo *LOD* e *LOQ*. Para o pireno, verifica-se para ambos os sistemas o mesmo valor para o coeficiente de determinação, tendo sido obtidos valores menores de *LOD* e *LOQ* em 0,01 , para o sistema 3.

Comparativamente, entre os sistemas 2 e 3 no método *SRM*, verifica-se ainda que para os cinco HPAs em que foi possível realizar um ajuste da gama de trabalho, o sistema 3 permite obter, para 60% dos compostos, valores mais baixos de *LODs* e *LOQs*, e por sua vez, valores mais elevados de coeficientes de determinação.

Deste modo, com base nas comparações realizadas entre os dois sistemas, para ambos os métodos, conclui-se que os *LODs* e *LOQs* estão relacionados apenas com o valor do coeficiente de determinação, podendo este ser maior ou menor para qualquer um dos dois sistemas, como é o caso do fluoreno, onde na tabela 3.23 este se assume com valores de *LOD* e *LOQ* mais elevados para o sistema 2 e na tabela 3.25 com valores mais elevados para o sistema 3. Assim, conclui-se que o *LOD* e o *LOQ* são limites estatísticos, calculados com base na gama de trabalho que se considera, variando consoante o *liner* utilizado.

3.2.5 – Precisão

De modo a avaliar a dispersão de resultados para cada repetição de ensaios, foi determinado para cada um dos métodos de ionização, em cada um dos sistemas utilizados e para cada HPA, o *RSD* da média das áreas obtidas para além da média dos *RSD* obtidos para todas as amostras.

Relativamente ao sistema 1, para a análise em *SIM* e *SRM* foi utilizada toda a gama analítica, entre 10 a 50 ppb (tabela 3.26).

Tabela 3.26 - Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *SIM* e *SRM*, para o sistema 1, para N' = 3 e N' = 4, respectivamente.

HPA	<i>RSD</i> (%) (10 ppb)		<i>RSD</i> (%) (20 ppb)		<i>RSD</i> (%) (30 ppb)		<i>RSD</i> (%) (40 ppb)		<i>RSD</i> (%) (50 ppb)		\bar{X} <i>RSD</i> (%)	
	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>
1'	9,51	5,95	25,96	42,01	31,33	34,78	18,64	23,89	12,91	28,22	19,67	26,97
2'	10,04	19,23	24,45	40,75	28,69	29,46	17,46	18,06	11,86	24,32	18,50	26,36
3'	8,92	24,36	29,89	43,62	34,66	35,24	18,61	22,32	11,96	26,30	20,81	30,37
4'	10,19	23,28	28,18	44,76	31,57	33,00	16,33	23,19	10,72	26,20	19,40	30,09
5'	8,69	40,84	30,18	45,76	34,68	38,40	18,40	30,44	12,62	28,41	20,91	36,77
6'	4,05	28,92	29,97	52,95	33,67	47,26	22,39	41,97	16,82	33,85	21,38	40,99
7'	42,14	68,65	44,10	61,53	41,17	81,98	20,15	61,36	16,15	38,66	32,74	62,43
8'	3,77	31,29	31,00	41,35	33,35	32,82	20,07	33,57	14,75	26,73	20,59	33,15
9'	3,69	25,30	29,49	37,62	29,52	30,02	21,32	28,52	14,70	24,59	19,74	29,21
10'	21,85	62,47	45,51	58,16	36,65	59,24	31,88	57,46	28,17	36,70	32,82	54,81
11'	6,66	45,68	38,81	54,78	32,53	51,01	27,76	48,41	23,42	33,38	25,84	46,65
12'	22,42	79,25	42,47	52,16	34,10	49,35	31,83	50,28	29,10	33,35	31,98	52,88
13'	30,33	92,04	46,87	58,62	39,40	53,35	31,52	51,02	27,78	37,51	35,18	58,51
14'	24,04	43,45	43,40	39,28	40,68	51,70	35,48	61,23	35,99	39,77	35,92	47,09
15'	N.D.	39,18	75,54	39,42	41,78	57,61	37,84	78,26	49,20	46,31	51,09	52,15
16'	42,53	13,72	80,93	49,26	45,17	60,95	43,02	106,71	68,51	54,62	56,03	57,05
17'	15,94	40,16	53,52	32,75	38,50	64,54	41,67	64,16	44,99	39,75	38,92	48,27

^{N.D.} não pode ser determinado

No sistema 1, obtiveram-se para o método *SIM* e *SRM*, valores médios de *RSDs* superiores a 10%, para todos os compostos, em cada um dos métodos de ionização utilizados, o que não respeita a precisão pretendida para este sistema.

Nos sistemas 2 e 3, foi calculado o *RSD* da média das áreas e a média dos *RSDs* para toda a gama analítica, entre 250 a 5000 ppb, 5 a 250 ppb e 1 a 50 ppb, para a análise em *Full-Scan*, *SIM* e *SRM*, respectivamente (tabela 3.27) (anexos 29, 30a e 30b, e 31a e 31b, respectivamente).

Tabela 3.27 - Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *Full-Scan*, *SIM* e *SRM*, para os sistemas 2 e 3, para N°= 3.

HPA	\bar{X} <i>RSD</i> (%)					
	<i>Full-Scan</i>		<i>SIM</i>		<i>SRM</i>	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
2-metil-naftaleno	3,90	2,02	3,70	0,66	3,16	2,78
1-metil-naftaleno	2,65	3,18	3,28	6,20	2,72	2,80
Acenaftileno	5,61	2,00	4,02	1,29	3,01	2,34
Acenafteno	3,85	1,47	3,28	0,92	2,69	1,54
Fluoreno	7,06	2,43	2,94	0,67	3,78	1,72
Fenantreno	2,09	1,91	2,23	2,52	4,08	2,36
Antraceno	2,54	2,05	5,12	2,99	6,17	5,11
Fluoranteno	1,81	1,10	3,42	8,54	3,45	6,36
Pireno	2,37	1,22	3,40	7,41	3,68	4,83
Benzo(a)antraceno	2,50	1,35	5,47	3,21	5,84	4,42
Criseno	3,90	2,01	6,54	3,58	6,11	3,48
Benzo(b)fluoranteno	2,92	4,29	5,72	4,47	8,88	4,22
Benzo(k)fluoranteno	4,92	6,12	10,23	5,00	15,05	9,91
Benzo(a)pireno	9,31	2,53	33,49	12,15	27,27	23,57
Indeno(1,2,3-cd)pireno	7,58	8,81	6,07	7,98	8,07	10,15
Dibenzo(a,h)antraceno	3,60	14,90	5,23	12,98	10,61	29,62
Benzo(g,h,i)perileno	5,23	6,02	8,97	8,44	11,89	14,96

Analisando a tabela 3.27, verifica-se que a maioria dos compostos analisados no método *Full-Scan* apresentam valores de *RSD* da média das áreas obtidas inferiores a 10%.

Deste modo, realizou-se um cálculo da média dos *RSDs* obtidos em cada concentração para cada composto, no qual se verificou que apenas o dibenzo(a,h)antraceno, assinalado a vermelho, possui valores superiores a 10%, para o sistema 3.

Relativamente ao método *SIM*, apenas o benzo(k)fluoranteno no sistema 2, o dibenzo(a,h)antraceno, no sistema 3 e o benzo(a)pireno, em ambos os sistemas, apresentaram valores acima dos 10%, assinalados a vermelho.

Relativamente ao método *SRM*, foram de igual modo desprezados todos os valores obtidos para a concentração de 50 ppb para ambos os sistemas, pelo facto do sistema 3 ter

apresentado resultados deturpados. Desta forma, procedeu-se ao cálculo da média dos *RSDs* da média das áreas de 1 a 40 ppb, para este método de análise, no qual se verifica que o benzo(k)fluoranteno, no sistema 2, o indeno(1,2,3-cd)pireno, no sistema 3 e o benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, em ambos os sistemas, apresentaram valores acima dos 10%, assinalados a vermelho.

Com base nesta tabela, foram determinados os valores médios da média dos *RSDs* obtidos, sendo estes de 4,23 e 3,73 (*Full-Scan*) para os sistemas 2 e 3, respectivamente, de 6,65 e 5,24 (*SIM*) para os sistemas 2 e 3, respectivamente e de 7,44 e 7,66 (*SRM*) para os sistemas 2 e 3, respectivamente. Deste modo, é possível concluir que quanto mais reduzida for a gama de trabalho, maior será o valor médio de *RSD*.

3.2.6 – Exatidão

Para determinar a exatidão de cada método de análise para cada sistema, foram utilizadas as mesmas soluções, funcionando como controlo analítico, sendo estas assumidas como soluções certificadas e substituídas na equação: $x = \frac{y-b}{m}$.

Deste modo, para cada composto definiram-se três pontos, com a concentração mais alta, intermédia e mais baixa, de toda a gama analítica utilizada, tendo sido calculado o erro relativo (%) e a exatidão (%) para cada uma destas concentrações. Com base nestes três pontos, determinou-se a exatidão média para cada composto, em cada método de análise e sistema utilizado.

3.2.6.1 – Sistema 1

Neste sistema, não foi determinada a exatidão para nenhum dos métodos de ionização utilizados, uma vez que os valores médios de área obtidos continham *RSDs* bastante elevados.

3.2.6.2 – Sistema 2

Relativamente a este sistema, foi determinada a exatidão para cada HPA, nos métodos, *Full-Scan*, *SIM* e *SRM* (tabelas 3.28, 3.29 e 3.30, respectivamente).

Tabela 3.28 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método *Full-Scan* no sistema 2, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.

HPA	Concentração (250 ppb)		Concentração (2000 ppb)		Concentração (5000 ppb)		ER (%)			\bar{X} ER (%)	\bar{X} exatidão (%)
	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	250 ppb	2000 ppb	5000 ppb		
1'	250,00	231,08	2000,00	2022,50	5000,00	4990,92	-7,57	1,12	-0,18	-2,21	97,79
2'	250,00	294,97	2000,00	2093,74	5000,00	5010,50	17,99	4,69	0,21	7,63	107,63
3'	250,00	246,52	2000,00	2082,94	5000,00	5007,39	-1,39	4,15	0,15	0,97	100,97

4'	250,00	217,85	2000,00	2037,95	5000,00	4960,70	-12,86	1,90	-0,79	-3,92	96,08
5'	250,00	244,51	2000,00	2057,41	5000,00	4984,97	-2,20	2,87	-0,30	0,12	100,12
6'	250,00	236,68	2000,00	2086,92	5000,00	4986,56	-5,33	4,35	-0,27	-0,42	99,58
7'	250,00	236,32	2000,00	2082,90	5000,00	4975,17	-5,47	4,14	-0,50	-0,61	99,39
8'	250,00	244,42	2000,00	2079,14	5000,00	4974,10	-2,23	3,96	-0,52	0,40	100,40
9'	250,00	235,00	2000,00	2050,21	5000,00	4983,70	-6,00	2,51	-0,33	-1,27	98,73
10'	250,00	315,84	2000,00	1977,64	5000,00	5018,19	26,33	-1,12	0,36	8,53	108,53
11'	250,00	316,19	2000,00	2019,11	5000,00	5005,46	26,47	0,96	0,11	9,18	109,18
12'	250,00	313,07	2000,00	1970,26	5000,00	5019,42	25,23	-1,49	0,39	8,04	108,04
13'	250,00	317,58	2000,00	2004,47	5000,00	5016,19	27,03	0,22	0,32	9,19	109,19
14'	250,00	351,67	2000,00	1913,34	5000,00	5010,87	40,67	-4,33	0,22	12,18	112,18
15'	250,00	361,14	2000,00	1963,55	5000,00	5065,11	44,45	-1,82	1,30	14,64	114,64
16'	250,00	358,24	2000,00	1878,62	5000,00	5013,60	43,30	-6,07	0,27	12,50	112,50
17'	250,00	401,31	2000,00	2007,93	5000,00	5068,30	60,52	0,40	1,37	20,76	120,76

Após análise desta tabela verifica-se que os valores médios do erro relativo e exatidão, são de 5,63% e 105,63%, respectivamente.

Tabela 3.29 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método *SIM* no sistema 2, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.

HPA	Concentração (5 ppb)		Concentração (40 ppb)		Concentração (250 ppb)		ER (%)			\bar{X} ER (%)	\bar{X} Exatidão (%)
	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	5 ppb	40 ppb	250 ppb		
1'	5,00	5,48	40,00	39,98	250,00	249,98	9,60	-0,06	-0,01	3,18	103,18
2'	5,00	5,86	40,00	39,80	250,00	250,13	17,22	-0,51	0,05	5,59	105,59
3'	5,00	9,82	40,00	32,26	250,00	251,25	96,49	-19,34	0,50	25,88	125,88
4'	5,00	6,31	40,00	37,66	250,00	250,31	26,11	-5,85	0,12	6,80	106,80
5'	5,00	6,28	40,00	39,31	250,00	250,25	25,63	-1,72	0,10	8,00	108,00
6'	5,00	5,73	40,00	38,01	250,00	250,21	14,68	-4,99	0,08	3,26	103,26
7'	5,00	13,39	40,00	17,58	250,00	251,25	167,78	-56,06	0,50	37,41	137,41
8'	5,00	7,56	40,00	39,33	250,00	250,65	51,11	-1,67	0,26	16,57	116,57
9'	5,00	8,50	40,00	37,01	250,00	251,01	70,02	-7,48	0,40	20,98	120,98
10'	5,00	13,01	40,00	30,96	250,00	252,55	160,17	-22,61	1,02	46,19	146,19
11'	5,00	9,34	40,00	36,12	250,00	251,10	86,82	-9,71	0,44	25,85	125,85
12'	5,00	11,92	40,00	35,58	250,00	251,98	138,43	-11,04	0,79	42,73	142,73
13'	5,00	12,24	40,00	35,47	250,00	251,44	144,72	-11,33	0,58	44,66	144,66
14'	5,00	23,56	40,00	22,19	250,00	256,24	371,29	-44,51	2,50	109,76	209,76
15'	5,00	11,88	40,00	33,87	250,00	252,17	137,59	-15,33	0,87	41,04	141,04
16'	5,00	13,57	40,00	33,73	250,00	252,49	171,43	-15,67	0,99	52,25	152,25
17'	5,00	16,35	40,00	23,83	250,00	253,45	227,01	-40,42	1,38	62,65	162,65

Após análise desta tabela verifica-se que os valores médios do erro relativo e exatidão, são de 32,52% e 132,52%, respectivamente.

Tabela 3.30 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método *SRM* no sistema 2, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.

HPA	Concentração (1 ppb)		Concentração (10 ppb)		Concentração (40 ppb)		ER (%)			\bar{X} ER (%)	\bar{X} exatidão (%)
	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	1 ppb	10 ppb	40 ppb		
1'	1,00	0,87	10,00	10,01	40,00	36,48	-13,40	0,11	-8,79	-7,36	92,64
2'	1,00	-0,37	10,00	9,93	40,00	37,86	-137,18	-0,67	-5,35	-47,74	52,26
3'	1,00	0,14	10,00	8,81	40,00	31,47	-85,83	-11,85	-21,32	-39,67	60,33
4'	1,00	0,20	10,00	8,81	40,00	36,10	-79,54	-11,87	-9,76	-33,72	66,28
5'	1,00	0,27	10,00	8,76	40,00	37,48	-73,26	-12,40	-6,30	-30,66	69,34
6'	1,00	0,42	10,00	10,65	40,00	35,90	-58,41	6,52	-10,25	-20,71	79,29
7'	1,00	0,80	10,00	6,57	40,00	13,96	-20,20	-34,33	-65,09	-39,88	60,12
8'	1,00	0,50	10,00	8,85	40,00	38,53	-50,46	-11,48	-3,68	-21,88	78,12
9'	1,00	0,51	10,00	8,66	40,00	36,85	-48,50	-13,41	-7,88	-23,26	76,74
10'	1,00	1,42	10,00	7,44	40,00	31,76	42,06	-25,59	-20,60	-1,38	98,62
11'	1,00	1,31	10,00	7,86	40,00	37,61	31,13	-21,37	-5,97	1,26	101,26
12'	1,00	1,12	10,00	8,03	40,00	37,77	11,67	-19,67	-5,58	-4,53	95,47
13'	1,00	1,40	10,00	7,36	40,00	35,62	39,82	-26,41	-10,95	0,82	100,82
14'	1,00	4,50	10,00	N.D.	40,00	N.D.	350,06	N.D.	N.D.	350,06	450,06
15'	1,00	1,78	10,00	8,38	40,00	35,10	77,82	-16,19	-12,25	16,46	116,46
16'	1,00	4,02	10,00	9,02	40,00	32,81	302,48	-9,84	-17,98	91,55	191,55
17'	1,00	1,74	10,00	6,38	40,00	18,17	73,53	-36,24	-54,58	-5,76	94,24

N.D. não pode ser determinado

Após análise desta tabela verifica-se que os valores médios do erro relativo e exatidão, são de 10,80% e 110,80%, respectivamente.

Após comparação dos valores obtidos para cada um dos métodos de análise realizados no sistema 2, verifica-se de forma geral, independentemente do método de análise utilizado, que o valor do erro relativo (%) para cada composto tende a diminuir com o aumento da concentração, o que é expectável, uma vez que o *RSD* da média das áreas tende, de igual modo, a diminuir com o aumento da mesma.

Noutra perspectiva, constata-se para o método de análise em *Full-Scan*, que os últimos quatro compostos a serem eluídos assumem valores médios de exatidão (%) sobreavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por excesso), identificados a laranja. De igual modo para o método *SIM*, os valores obtidos relativamente ao valor médio de exatidão (%), são também sobreavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por excesso) para doze dos dezassete compostos presentes na solução de HPAs, identificados a laranja.

Porém, no método de análise em *SRM*, é perceptível uma subavaliação relativamente ao valor médio de exatidão (%) (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por defeito) para a primeira metade dos compostos a serem eluídos, à excepção do 2-metil-naftaleno (1'),

identificados a azul. Assim, verifica-se que apenas os últimos quatro compostos, à excepção do benzo(g,h,i)perileno (17') assumem valores médios de exatidão (%) sobreavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%).

3.2.6.3 – Sistema 3

Relativamente a este sistema, foi de igual modo determinada a exatidão para cada HPA, nos métodos, *Full-Scan*, *SIM* e *SRM* (tabelas 3.31, 3.32 e 3.33, respectivamente).

Tabela 3.31 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método *Full-Scan* no sistema 3, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.

HPA	Concentração (250 ppb)		Concentração (2000 ppb)		Concentração (5000 ppb)		ER (%)			\bar{X} ER (%)	\bar{X} exatidão (%)
	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	250 ppb	2000 ppb	5000 ppb		
1'	250,00	251,64	2000,00	1950,00	5000,00	5025,56	0,65	-2,50	0,51	-0,44	99,56
2'	250,00	205,23	2000,00	2017,19	5000,00	4955,12	-17,91	0,86	-0,90	-5,98	94,02
3'	250,00	211,44	2000,00	1959,74	5000,00	4992,46	-15,42	-2,01	-0,15	-5,86	94,14
4'	250,00	215,77	2000,00	1929,33	5000,00	4990,25	-13,69	-3,53	-0,20	-5,81	94,19
5'	250,00	296,19	2000,00	1937,42	5000,00	5010,85	18,48	-3,13	0,22	5,19	105,19
6'	250,00	260,97	2000,00	1938,94	5000,00	5011,55	4,39	-3,05	0,23	0,52	100,52
7'	250,00	250,13	2000,00	1962,98	5000,00	5010,16	0,05	-1,85	0,20	-0,53	99,47
8'	250,00	244,67	2000,00	1932,14	5000,00	4992,21	-2,13	-3,39	-0,16	-1,89	98,11
9'	250,00	277,79	2000,00	1981,19	5000,00	5028,70	11,12	-0,94	0,57	3,58	103,58
10'	250,00	339,89	2000,00	1933,49	5000,00	5051,17	35,96	-3,33	1,02	11,22	111,22
11'	250,00	317,72	2000,00	1935,72	5000,00	5043,01	27,09	-3,21	0,86	8,24	108,24
12'	250,00	328,57	2000,00	1871,93	5000,00	5030,24	31,43	-6,40	0,60	8,54	108,54
13'	250,00	309,33	2000,00	1886,53	5000,00	5009,89	23,73	-5,67	0,20	6,09	106,09
14'	250,00	362,20	2000,00	1848,20	5000,00	5047,35	44,88	-7,59	0,95	12,75	112,75
15'	250,00	470,36	2000,00	1736,77	5000,00	5123,65	88,14	-13,16	2,47	25,82	125,82
16'	250,00	N.D.	2000,00	1658,81	5000,00	5120,88	N.D.	-17,06	2,42	-7,32	92,68
17'	250,00	422,23	2000,00	1751,98	5000,00	5093,59	68,89	-12,40	1,87	19,45	119,45

N.D. não pode ser determinado

Após análise desta tabela verifica-se que os valores médios do erro relativo e exatidão, são de 4,33% e 104,33%, respectivamente.

Tabela 3.32 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método *SIM* no sistema 3, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.

HPA	Concentração (5 ppb)		Concentração (40 ppb)		Concentração (250 ppb)		ER (%)			\bar{X} ER (%)	\bar{X} Exatidão (%)
	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	5 ppb	40 ppb	250 ppb		
1'	5,00	-0,31	40,00	40,15	250,00	247,47	-106,14	0,37	-1,01	-35,59	64,41
2'	5,00	1,26	40,00	39,72	250,00	247,73	-74,77	-0,70	-0,91	-25,46	74,54
3'	5,00	7,26	40,00	33,90	250,00	250,90	45,27	-15,25	0,36	10,12	110,12

4'	5,00	0,86	40,00	37,39	250,00	247,89	-82,83	-6,53	-0,84	-30,07	69,93
5'	5,00	-0,01	40,00	40,05	250,00	247,58	-100,20	0,12	-0,97	-33,68	66,32
6'	5,00	-0,89	40,00	38,78	250,00	247,37	-117,71	-3,04	-1,05	-40,60	59,40
7'	5,00	12,82	40,00	17,62	250,00	252,27	156,42	-55,96	0,91	33,79	133,79
8'	5,00	-0,11	40,00	41,97	250,00	247,90	-102,18	4,92	-0,84	-32,70	67,30
9'	5,00	1,80	40,00	38,77	250,00	248,51	-64,02	-3,08	-0,60	-22,57	77,43
10'	5,00	8,28	40,00	30,10	250,00	250,17	65,63	-24,75	0,07	13,65	113,65
11'	5,00	6,78	40,00	20,92	250,00	249,82	35,70	-47,69	-0,07	-4,02	95,98
12'	5,00	7,80	40,00	35,23	250,00	249,93	55,93	-11,93	-0,03	14,66	114,66
13'	5,00	4,66	40,00	37,32	250,00	248,79	-6,87	-6,69	-0,48	-4,68	95,32
14'	5,00	24,62	40,00	21,47	250,00	255,82	392,44	-46,34	2,33	116,14	216,14
15'	5,00	10,10	40,00	33,52	250,00	250,02	102,09	-16,20	0,01	28,63	128,63
16'	5,00	14,29	40,00	32,28	250,00	250,71	185,79	-19,31	0,28	55,59	155,59
17'	5,00	16,42	40,00	20,11	250,00	252,30	228,45	-49,73	0,92	59,88	159,88

Após análise desta tabela verifica-se que os valores médios do erro relativo e exatidão, são de 6,06% e 106,06%, respectivamente.

Tabela 3.33 - Valores médios de erro relativo (%) e exatidão (%) para cada composto, para o método SRM no sistema 3, com base em 3 pontos distintos da gama analítica utilizada.

HPA	Concentração (1 ppb)		Concentração (10 ppb)		Concentração (40 ppb)		ER (%)			\bar{X} ER (%)	\bar{X} exatidão (%)
	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica	Experimental	1 ppb	10 ppb	40 ppb		
1'	1,00	1,60	10,00	9,70	40,00	37,07	60,50	-3,02	-7,33	16,72	116,72
2'	1,00	1,49	10,00	9,61	40,00	37,53	49,08	-3,93	-6,19	12,99	112,99
3'	1,00	-0,19	10,00	10,35	40,00	37,38	-119,27	3,49	-6,54	-40,77	59,23
4'	1,00	2,33	10,00	9,81	40,00	32,85	132,74	-1,89	-17,87	37,66	137,66
5'	1,00	1,91	10,00	9,73	40,00	36,94	91,38	-2,74	-7,66	27,00	127,00
6'	1,00	1,87	10,00	11,72	40,00	35,70	87,48	17,24	-10,74	31,33	131,33
7'	1,00	-1,51	10,00	8,24	40,00	15,62	-251,12	-17,58	-60,95	-109,88	-9,88
8'	1,00	0,49	10,00	11,15	40,00	42,41	-50,73	11,50	6,03	-11,07	88,93
9'	1,00	0,96	10,00	10,73	40,00	40,00	-4,26	7,28	0,01	1,01	101,01
10'	1,00	3,60	10,00	9,40	40,00	30,24	260,23	-5,97	-24,40	76,62	176,62
11'	1,00	2,77	10,00	9,43	40,00	38,30	176,66	-5,67	-4,25	55,58	155,58
12'	1,00	4,10	10,00	9,54	40,00	33,16	310,37	-4,63	-17,10	96,21	196,21
13'	1,00	2,87	10,00	8,98	40,00	39,89	186,56	-10,19	-0,27	58,70	158,70
14'	1,00	6,29	10,00	7,28	40,00	N.D.	528,72	-27,20	N.D.	250,76	350,76
15'	1,00	4,97	10,00	9,35	40,00	30,29	397,37	-6,52	-24,27	122,19	222,19
16'	1,00	7,11	10,00	9,64	40,00	23,43	611,00	-3,61	-41,42	188,66	288,66
17'	1,00	7,23	10,00	7,23	40,00	17,73	622,65	-27,73	-55,66	179,75	279,75

N.D. não pode ser determinado

Após análise desta tabela verifica-se que os valores médios do erro relativo e exatidão, são de 58,44% e 158,54%, respectivamente.

Após comparação dos valores obtidos para cada um dos métodos de análise realizados no sistema 3, verifica-se de um modo geral, independentemente do método de análise utilizado, que o valor do erro relativo (%) para cada composto tende a diminuir com o aumento da concentração, o que é expectável, tal como foi referido anteriormente para o sistema 2.

Noutra perspectiva, verifica-se para o método de análise em *Full-Scan*, que o pireno (9') e três dos últimos quatro compostos a serem eluídos assumem valores médios de exatidão (%) sobreavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por excesso), identificados a laranja, tal como se verificou para o sistema 2, à excepção do dibenzo(a,h)antraceno (16').

No entanto, para o método *SIM*, os valores relativos ao valor médio de exatidão (%) divergiram dos obtidos no sistema 2. Deste modo, verificou-se que sete dos nove primeiros compostos a serem eluídos apresentam valores subavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por defeito), identificados a azul e seis dos restantes oito compostos com tempos de eluição superiores a estes, apresentam valores sobreavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por excesso), identificados a laranja.

Em relação à análise em *SRM*, observam-se valores relativos ao valor médio de exatidão (%) sobreavaliados (com valores médios de erro relativo superiores a 10%, por excesso), para treze dos dezassete compostos presentes na solução de HPAs, identificados a laranja.

3.2.6.4 – *Full-Scan* vs *SIM*

De modo a determinar qual dos três métodos apresenta valores menores relativamente à média de erros relativos, procedeu-se a uma comparação entre o método *Full-Scan* e o método *SIM*, para a concentração de 250 ppb (tabela 3.34).

Tabela 3.34 - Comparação de erro relativo (%) e exatidão (%) entre os métodos *Full-Scan* e *SIM*, nos sistemas 2 e 3, para cada composto, com a concentração de 250 ppb.

HPA	Sistema 2				Sistema 3			
	ER (%)		Exatidão (%)		ER (%)		Exatidão (%)	
	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>	<i>Full-Scan</i>	<i>SIM</i>
2-metil-naftaleno	-7,57	-0,01	92,43	99,99	0,65	-1,01	100,65	98,99
1-metil-naftaleno	17,99	0,05	117,99	100,05	-17,91	-0,91	82,09	99,09
Acenaftileno	-1,39	0,50	98,61	100,50	-15,42	0,36	84,58	100,36
Acenafteno	-12,86	0,12	87,14	100,12	-13,69	-0,84	86,31	99,16
Fluoreno	-2,20	0,10	97,80	100,10	18,48	-0,97	118,48	99,03
Fenantreno	-5,33	0,08	94,67	100,08	4,39	-1,05	104,39	98,95
Antraceno	-5,47	0,50	94,53	100,50	0,05	0,91	100,05	100,91
Fluoranteno	-2,23	0,26	97,77	100,26	-2,13	-0,84	97,87	99,16
Pireno	-6,00	0,40	94,00	100,40	11,12	-0,60	111,12	99,40
Benzo(a)antraceno	26,33	1,02	126,33	101,02	35,96	0,07	135,96	100,07
Criseno	26,47	0,44	126,47	100,44	27,09	-0,07	127,09	99,93
Benzo(b)fluoranteno	25,23	0,79	125,23	100,79	31,43	-0,03	131,43	99,97

Benzo(k)fluoranteno	27,03	0,58	127,03	100,58	23,73	-0,48	123,73	99,52
Benzo(a)pireno	40,67	2,50	140,67	102,50	44,88	2,33	144,88	102,33
Indeno(1,2,3-cd)pireno	44,45	0,87	144,45	100,87	88,14	0,01	188,14	100,01
Dibenzo(a,h)antraceno	43,30	0,99	143,30	100,99	N.D.	0,28	N.D.	100,28
Benzo(g,h,i)perileno	60,52	1,38	160,52	101,38	68,89	0,92	168,89	100,92

N.D. não pode ser determinado

A partir desta tabela, verifica-se numa comparação entre o método *SIM* e o método *Full-Scan*, para o sistema 2, que o primeiro método apresenta sempre valores em módulo de erros relativos (%) menores, estando estes compreendidos entre 2,79 e 858,05 , para o acenaftileno e o 2-metil-naftaleno, respectivamente.

Numa comparação entre os mesmos métodos para o sistema 3, constata-se também que o método *SIM* apresenta valores em módulo de erros relativos (%) menores do que o método *Full-Scan*, à excepção do 2-metil-naftaleno e do antraceno, estando estes compreendidos entre 2,54 e 10724,55 , para o fluoranteno e o indeno(1,2,3-cd)pireno, respectivamente.

Deste modo, é possível afirmar que o método *SIM* é muito mais exacto do que o método *Full-Scan*, uma vez que fornece áreas que permitem assumir que o valor da concentração calculada experimentalmente está muito próximo do seu valor teórico, sendo o valor em módulo da média de erro relativo de 0,51 e 0,27, para os sistemas 2 e 3, respectivamente.

3.2.6.5 – *SIM* vs *SRM*

De igual modo, procedeu-se à comparação entre o método *SIM* e *SRM*, entre o método *SIM* e o método *SRM*, para a concentração de 40 ppb (tabela 3.35).

Tabela 3.35 - Comparação de erro relativo (%) e exatidão (%) entre os métodos *SIM* e *SRM*, nos sistemas 2 e 3, para cada composto, com a concentração de 40 ppb.

HPA	Sistema 2				Sistema 3			
	ER (%)		Exatidão (%)		ER (%)		Exatidão (%)	
	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>
2-metil-naftaleno	-0,06	-8,79	99,94	91,21	0,37	-7,33	100,37	92,67
1-metil-naftaleno	-0,51	-5,35	99,49	94,65	-0,70	-6,19	99,30	93,81
Acenaftileno	-19,34	-21,32	80,66	78,68	-15,25	-6,54	84,75	93,46
Acenafteno	-5,85	-9,76	94,15	90,24	-6,53	-17,87	93,47	82,13
Fluoreno	-1,72	-6,30	98,28	93,70	0,12	-7,66	100,12	92,34
Fenantreno	-4,99	-10,25	95,01	89,75	-3,04	-10,74	96,96	89,26
Antraceno	-56,06	-65,09	43,94	34,91	-55,96	-60,95	44,04	39,05
Fluoranteno	-1,67	-3,68	98,33	96,32	4,92	6,03	104,92	106,03
Pireno	-7,48	-7,88	92,52	92,12	-3,08	0,01	96,92	100,01
Benzo(a)antraceno	-22,61	-20,60	77,39	79,40	-24,75	-24,40	75,25	75,60
Criseno	-9,71	-5,97	90,29	94,03	-47,69	-4,25	52,31	95,75
Benzo(b)fluoranteno	-11,04	-5,58	88,96	94,42	-11,93	-17,10	88,07	82,90

Benzo(k)fluoranteno	-11,33	-10,95	88,67	89,05	-6,69	-0,27	93,31	99,73
Benzo(a)pireno	-44,51	N.D.	55,49	N.D.	-46,34	N.D.	53,66	N.D.
Indeno(1,2,3-cd)pireno	-15,33	-12,25	84,67	87,75	-16,20	-24,27	83,80	75,73
Dibenzo(a,h)antraceno	-15,67	-17,98	84,33	82,02	-19,31	-41,42	80,69	58,58
Benzo(g,h,i)perileno	-40,42	-54,58	59,58	45,42	-49,73	-55,66	50,27	44,34

N.D. não pode ser determinado

A partir da tabela 3.35, verifica-se que o sistema 2 para o método *SIM* revela uma menor percentagem de erro relativo para os nove compostos com tempos de eluição mais baixos, para além do dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno.

No entanto, o sistema 3 revela para o mesmo método uma menor percentagem de erro relativo para os oito compostos com tempos de eluição mais baixos, à excepção do acenaftileno, para o benzo(b)fluoranteno e para os últimos três compostos com pontos de eluição mais elevados.

Assim, uma vez que os resultados obtidos não coincidem na totalidade para ambos os sistemas, é possível afirmar somente que o método *SIM* permite melhores resultados do que o método *SRM* para 68,75% dos compostos, não tendo sido possível avaliar a exatidão para o benzo(a)pireno. Relativamente aos resultados obtidos em módulo para o valor médio de erro relativo, verifica-se que o método *SIM* fornece de um modo geral valores mais baixos que o método *SRM*, sendo estes de 13,99 e 15,97% para o primeiro e 16,65 e 17,41%, respectivamente, verificando-se ainda que o sistema 2 se aproxima mais do valor teórico do que o sistema 3.

3.2.7 – Repetibilidade

A robustez de cada sistema foi avaliada com base na repetibilidade dos métodos analíticos para cada um dos três sistemas, através da identificação de erros sistemáticos e aleatórios, identificados a vermelho e a azul, respectivamente.

3.2.7.1 – Sistema 1

Deste modo, para este sistema, foram determinadas as amostras nas quais se verificou um *RSD* da média das áreas superior a 10%, tanto no método *SIM*, como no método *SRM* (tabela 3.36 e 3.37, respectivamente).

Tabela 3.36 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *SIM*, no sistema 1, para $N^{\circ}=3$.

HPA	Concentração (ppb)				
	10	20	30	40	50
2-metil-naftaleno		x	x	x	x
1-metil-naftaleno	x	x	x	x	x
Acenaftileno		x	x	x	x

Acenafteno	x	x	x	x	x
Fluoreno		x	x	x	x
Fenantreno		x	x	x	x
Antraceno	x	x	x	x	x
Fluoranteno		x	x	x	x
Pireno		x	x	x	x
Benzo(a)antraceno	x	x	x	x	x
Criseno		x	x	x	x
Benzo(b)fluoranteno	x	x	x	x	x
Benzo(k)fluoranteno	x	x	x	x	x
Benzo(a)pireno	x	x	x	x	x
Indeno(1,2,3-cd)pireno	N.D.	x	x	x	x
Dibenzo(a,h)antraceno	x	x	x	x	x
Benzo(g,h,i)perileno	x	x	x	x	x

N.D. não pode ser determinado

Tabela 3.37 - Identificação das amostras com RSDs da média das áreas superiores a 10% para o método *SRM*, no sistema 1, para N°= 4.

HPA	Concentração (ppb)				
	10	20	30	40	50
2-metil-naftaleno		x	x	x	x
1-metil-naftaleno	x	x	x	x	x
Acenaftileno	x	x	x	x	x
Acenafteno	x	x	x	x	x
Fluoreno	x	x	x	x	x
Fenantreno	x	x	x	x	x
Antraceno	x	x	x	x	x
Fluoranteno	x	x	x	x	x
Pireno	x	x	x	x	x
Benzo(a)antraceno	x	x	x	x	x
Criseno	x	x	x	x	x
Benzo(b)fluoranteno	x	x	x	x	x
Benzo(k)fluoranteno	x	x	x	x	x
Benzo(a)pireno	x	x	x	x	x
Indeno(1,2,3-cd)pireno	x	x	x	x	x
Dibenzo(a,h)antraceno	x	x	x	x	x
Benzo(g,h,i)perileno	x	x	x	x	x

Analisando a tabela 3.36, verifica-se que para dezassete compostos com cinco concentrações diferentes, num total de oitenta e quatro erros possíveis, uma vez que para o indeno(1,2,3-cd)pireno com a concentração de 10 ppb não foi possível determinar a área do pico obtida, foram obtidos setenta e sete HPAs cujos seus *RSD* da média das áreas se verificaram

superiores a 10%. Deste modo, assume-se que 91,67% dos HPAs obtidos manifestam erros sistemáticos, estando estes relacionados com a aquisição do sistema.

De igual modo, analisando a tabela 3.37, verifica-se que para um total de oitenta e cinco erros possíveis, oitenta e quatro destes apresentam valores de *RSD* da média das áreas superiores a 10%, perfazendo um total de 98,82% de erros sistemáticos, relacionados com a aquisição do sistema.

3.2.7.2 – Sistema 2

Neste sistema, foram de igual modo determinadas as amostras nas quais se verificou um *RSD* da média das áreas superior a 10%, para os três métodos de ionização empregues, *Full-Scan*, *SIM*, e *SRM* (tabelas 3.38, 3.39 e 3.40, respectivamente).

Tabela 3.38 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *Full-Scan*, no sistema 2, para $N' = 3$ ($N' = 2$ para 250 e 1000 ppb).

HPA	Concentração (ppb)				
	250	500	1000	2000	5000
2-metil-naftaleno					
1-metil-naftaleno					
Acenaftileno	x				
Acenafteno					
Fluoreno	x				
Fenantreno					
Antraceno					
Fluoranteno					
Pireno					
Benzo(a)antraceno					
Criseno					
Benzo(b)fluoranteno					
Benzo(k)fluoranteno					
Benzo(a)pireno	x				
Indeno(1,2,3-cd)pireno	x				
Dibenzo(a,h)antraceno					
Benzo(g,h,i)perileno					

A partir da tabela 3.38, é possível verificar que foram obtidos apenas quatro HPAs cujos seus *RSDs* da média das áreas se verificaram superiores a 10%. No entanto, pelo facto deste tipo de erro ser alusivo apenas à concentração de 250 ppb, assume-se que está relacionado com a injeção, na qual se tomaram como referência apenas duas injeções, uma vez que a terceira injeção desta amostra apresentou anomalias, relativamente a todos os compostos. Deste modo,

para os dezassete HPAs resultantes desta concentração, assume-se que 23,53% dos compostos apresentam erros sistemáticos.

Tabela 3.39 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *SIM*, no sistema 2, com $N' = 3$ ($N' = 2$ para 30 ppb).

HPA	Concentração (ppb)						
	5	10	20	30	40	50	250
2-metil-naftaleno							
1-metil-naftaleno							
Acenaftileno							
Acenafteno							
Fluoreno							
Fenantreno							
Antraceno				x			
Fluoranteno							
Pireno							
Benzo(a)antraceno	x						x
Criseno	x						x
Benzo(b)fluoranteno	x						
Benzo(k)fluoranteno	x			x			
Benzo(a)pireno	x	x			x		x
Indeno(1,2,3-cd)pireno	x			x			
Dibenzo(a,h)antraceno				x			
Benzo(g,h,i)perileno	x						

Após análise da tabela 3.39, constata-se que para a concentração de 5 ppb, existem sete em dezassete HPAs cujos *RSDs* da média das áreas se verificaram superiores a 10%. Numa análise mais detalhada, verifica-se que este desvio, em termos de áreas obtidas, se acentua em sete dos últimos oito compostos com maiores tempos de retenção. Este erro sistemático é referente à temperatura do injetor, que se encontrava a 250 °C, verificando-se uma maior discriminação para os compostos com maior massa molecular, que por sua vez possuem uma temperatura de ebulição mais elevada que os de menor massa molecular, não tendo sido devidamente vaporizados no injetor, traduzindo-se assim numa diminuição da área dos picos obtidos para estes compostos.

Alusivamente à concentração de 250 ppb, verificou-se um aumento da área obtida a partir da segunda injeção, relativamente às injeções anterior e posterior. No entanto, os valores de *RSDs* da média das áreas só se verificam superiores a 10% para o benzo(a)antraceno, criseno e benzo(a)pireno.

Para a concentração de 30 ppb, verifica-se que quatro dos dezassete compostos apresentam *RSDs* da média das áreas superior a 10%. Este é um erro sistemático relacionado com a injeção, pelo facto de se ter tomado como referência apenas as duas últimas injeções, uma vez

que a primeira destas demonstrou anomalias em relação a todos os compostos, verificando-se *RSDs* acima dos 10% para os compostos com maior massa molecular, devido à temperatura do injetor, como referido anteriormente. Deste modo, para todos os compostos foi obtido um valor mais elevado de áreas para a última injeção, podendo este estar relacionado com a evaporação do solvente do respectivo *vial*.

Em relação aos *RSDs* da média das áreas que se verificam para o benzo(a)pireno a 10 e 40 ppb, e uma vez que só aconteceram para este composto, assume-se que são ambos erros aleatórios, com origem na aquisição do sistema.

Tabela 3.40 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *SRM*, no sistema 2, com $N^{\circ}=3$.

HPA	Concentração (ppb)							
	1	2	5	10	20	30	40	50
2-metil-naftaleno								
1-metil-naftaleno								
Acenaftileno								
Acenafteno								
Fluoreno								
Fenantreno	x							
Antraceno	x	x						
Fluoranteno								
Pireno	x							
Benzo(a)antraceno	x	x						
Criseno	x	x						
Benzo(b)fluoranteno	x	x						
Benzo(k)fluoranteno	x	x	x	x				
Benzo(a)pireno	x	x	x	N.D.		N.D.	N.D.	x
Indeno(1,2,3-cd)pireno	x	x						
Dibenzo(a,h)antraceno	x	x		x	x			
Benzo(g,h,i)perileno	x	x		x				

N.D. não pode ser determinado

Observando a tabela 3.40, verifica-se que para a concentração de 1 ppb, onze dos dezassete compostos apresentam um *RSD* da média das áreas superior a 10%. Novamente, verifica-se esta ocorrência para os HPAs com maior massa molecular, à excepção do fluoranteno, estando este erro sistemático relacionado com a temperatura do injetor, onde se verifica que a vaporização destes não ocorre devidamente.

De igual modo, para a concentração de 2 ppb, nove dos dezassete compostos apresentam *RSDs* relativos à média das áreas superiores a 10%. Uma vez mais, verifica-se que este erro ocorre

para os nove dos onze compostos com maiores tempos de retenção, à exceção do fluoranteno e pireno, estando este relacionado com a temperatura do injetor, tal como referido anteriormente.

Para a concentração de 20 e 50 ppb, verificaram-se *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o dibenzo(a,h)antraceno e benzo(a)pireno, respectivamente. Estes foram erros aleatórios, ocorrendo para apenas 5,88% dos compostos.

Nas concentrações de 5 e 10 ppb, verificaram-se *RSDs* da média das áreas em 11,76 e 17,65% dos compostos, respectivamente. Estes erros sistemáticos tiveram como origem, a evaporação do solvente do respectivo *vial*, que se verificou na segunda e terceira injeção, sobretudo para os compostos com maiores tempos de retenção. Deste modo, para o benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno relativamente à concentração de 5 ppb e para o benzo(k)fluoranteno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno para a concentração de 10 ppb, obtiveram-se *RSD* da média das áreas acima dos 10%.

3.2.7.3 – Sistema 3

Tal como nos sistemas anteriores, determinaram-se neste sistema, as amostras nas quais se verificaram *RSDs* da média das áreas superior a 10%, para os três métodos de ionização empregues, *Full-Scan*, *SIM*, e *SRM* (tabelas 3.41, 3.42 e 3.43, respectivamente).

Tabela 3.41 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *Full-Scan*, no sistema 3, para N'= 3 (N'= 2 para 2000 ppb).

HPA	Concentração (ppb)				
	250	500	1000	2000	5000
2-metil-naftaleno					
1-metil-naftaleno					
Acenaftileno					
Acenafteno					
Fluoreno					
Fenantreno					
Antraceno					
Fluoranteno					
Pireno					
Benzo(a)antraceno					
Criseno					
Benzo(b)fluoranteno		x			
Benzo(k)fluoranteno	x	x			
Benzo(a)pireno	x				
Indeno(1,2,3-cd)pireno	x	x	x		
Dibenzo(a,h)antraceno	N.D.	x	x		
Benzo(g,h,i)perileno	x	x			

N.D. não pode ser determinado

Analisando a tabela 3.41, observa-se para a concentração de 250 ppb, que quatro dos últimos cinco compostos com maior massa molecular obtiveram *RSDs* da média das áreas acima dos 10%, sendo que para o dibenzo(a,h)antraceno não foi possível determinar correctamente as áreas obtidas. Este teve como principal causa, o facto de se estar a trabalhar numa concentração na qual os picos obtidos tendem a ficar distorcidos devido ao elevado ruído que se verifica. Assim, este define-se como um erro sistemático, tendo como origem a aquisição do sistema.

Relativamente à concentração de 500 ppb, constata-se que os valores de áreas obtidos pela terceira injeção tiveram, para a maioria dos compostos, valores inferiores às duas primeiras. Deste modo, constata-se novamente que a temperatura do injector influencia a área dos picos obtidos para os compostos com maior massa molecular, verificando-se que cinco dos últimos seis compostos a serem eluídos, à excepção do benzo(a)pireno, assumem valores de *RSDs* da média das áreas acima dos 10%. Deste modo, este define-se uma vez mais como um erro sistemático, que teve como origem a temperatura do injector.

Quanto à concentração de 1000 ppb, observa-se que para o indeno(1,2,3-cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno valores de *RSDs* da média das áreas acima dos 10%. Relativamente ao primeiro, verifica-se para a primeira de três injeções que o valor de área obtido é claramente superior aos obtidos nas injeções seguintes. No caso do dibenzo(a,h)antraceno, verifica-se que na segunda injeção o valor de área obtido é muito inferior às restantes injeções. Deste modo, classifica-se este erro como aleatório, tendo como origem a aquisição do sistema.

Tabela 3.42 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *SIM*, no sistema 3, para $N^{\circ}=3$ ($N^{\circ}=2$ para 20, 30, 40 e 250 ppb).

HPA	Concentração (ppb)						
	5	10	20	30	40	50	250
2-metil-naftaleno							
1-metil-naftaleno	x						
Acenaftileno							x
Acenafteno							x
Fluoreno							x
Fenantreno							x
Antraceno							x
Fluoranteno			x	x			
Pireno			x				
Benzo(a)antraceno	x						x
Criseno							x
Benzo(b)fluoranteno	x						x
Benzo(k)fluoranteno	x						x
Benzo(a)pireno	x	x		x			x
Indeno(1,2,3-cd)pireno		x					x

Dibenzo(a,h)antraceno		x					x
Benzo(g,h,i)perileno	x	x					x

Analisando a tabela 3.42, verifica-se que para a concentração de 5 ppb, seis dos dezassete compostos apresentam *RSDs* da média das áreas superiores a 10%. No entanto, assumiu-se este erro como sendo sistemático, tendo como origem um excesso de volume injectado na primeira injeção, que se verificou maior para os compostos assinalados na tabela.

Relativamente à concentração de 10 ppb, verifica-se que os últimos quatro compostos com maior massa molecular apresentam *RSDs* da média das áreas superiores a 10%. Este erro assume-se como sistemático, estando uma vez mais associado à temperatura do injector.

Para as concentrações de 20 e 30 ppb, observaram-se para dois dos dezassete compostos valores de *RSDs* da média das áreas superiores a 10%, assumindo-os como erros aleatórios.

Em relação à concentração de 250 ppb, observa-se que 76,47% dos compostos apresentam valores de *RSDs* da média das áreas superiores a 10%. Este erro sistemático esteve na origem da injeção, uma vez que a primeira das três injeções não foi considerada devido a anomalias em relação a todos os compostos. Para além disso, considerando apenas duas injeções, a última destas teve valores de área bastante superiores à anterior, devido à possível evaporação do solvente da amostra.

Tabela 3.43 - Identificação das amostras com *RSDs* da média das áreas superiores a 10% para o método *SRM*, no sistema 3, para $N^{\circ}=3$ ($N^{\circ}=2$ para 10, 20, 30, 40 e 50 ppb).

HPA	Concentração (ppb)							
	1	2	5	10	20	30	40	50
2-metil-naftaleno			x					x
1-metil-naftaleno			x					x
Acenaftileno								x
Acenafteno								x
Fluoreno								x
Fenantreno								x
Antraceno		x						x
Fluoranteno	x			x				x
Pireno	x							x
Benzo(a)antraceno	x							x
Criseno								
Benzo(b)fluoranteno								x
Benzo(k)fluoranteno	x	x		x				x
Benzo(a)pireno	x	x	x	N.D		N.D	N.D	
Indeno(1,2,3-cd)pireno	x	x		x				x
Dibenzo(a,h)antraceno	x	x	x	x	x	x	x	x
Benzo(g,h,i)perileno	x	x	x		x			x

N.D. não pode ser determinado

Analisando a tabela 3.43, verifica-se que para a concentração de 1 ppb, oito dos dezassete compostos apresentam *RSDs* da média das áreas superiores 10%. Este erro está relacionado com a última das três injeções realizadas, a partir da qual se observa uma diminuição das áreas, relativamente às duas injeções anteriores, a partir do fenantreno até ao benzo(g,h,i)perileno, incluindo o criseno e o benzo(b)fluoranteno, que tiveram *RSDs* da média das áreas muito próximos de 10%. Deste modo, considera-se que este é um erro sistemático, associado ao injector.

Relativamente à concentração de 2 ppb, para o antraceno e para os últimos cinco compostos a serem eluídos da coluna cromatográfica, verificam-se *RSDs* da média das áreas acima dos 10%. Este erro sistemático constata-se sempre para a segunda injeção, onde tanto assume para alguns compostos valores de área muito inferior às restantes injeções, como é o caso do benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno, como assume valores muito superiores às restantes injeções, como é exemplo do antraceno, benzo(k)fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno, estando deste modo relacionado com a aquisição do sistema.

Para a concentração de 5 ppb, observam-se para cinco dos dezassete compostos valores de *RSDs* da média das áreas superiores a 10%. No entanto, estes podem ser classificados de forma diferente, nomeadamente para o 2-metil-naftaleno e 1-metil-naftaleno, onde a última das três injeções realizadas revela valores de área bastante superiores às anteriores, assumindo-se estes como erros aleatórios. Em contraste a estes, relativamente ao benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, assume-se que estes erros são erros sistemáticos, verificando-se para os compostos com maior massa molecular, estando uma vez mais associados à temperatura do injector. Para além destes três compostos, é de realçar que para o benzo(k)fluoranteno e indeno(1,2,3-cd)pireno os *RSDs* da média das áreas obtidos estiveram acima dos 7 e 9%, respectivamente, por motivos já descritos.

Em relação à concentração de 10 ppb, uma vez que houve um erro de injeção na qual foi desconsiderada a primeira de três injeções, pelo facto de ter demonstrado anomalias em relação a todos os compostos, foram consideradas apenas as últimas duas injeções. Deste modo, verificou-se para o fluoranteno um erro aleatório, tendo este apresentado um *RSD* da média das áreas obtido superior a 10%. Relativamente ao benzo(k)fluoranteno, indeno(1,2,3-cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno, verificaram-se novamente *RSDs* da média das áreas acima dos 10%, relacionados com a temperatura do injector. Para além destes, é de salientar que para o benzo(g,h,i)perileno o *RSD* da média das áreas obtido esteve acima dos 9%.

Para a concentração de 20 ppb, foi também desprezada, pelos mesmos motivos referidos anteriormente, a primeira das três injeções realizadas. No entanto, observam-se *RSDs* da média das áreas acima dos 10% para o dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. Deste modo, estes assumem-se como erros sistemáticos estando, uma vez mais, directamente relacionados com a temperatura do injector.

Para as concentrações de 30 e 40 ppb, também foram desprezados, por motivos acima referidos, a primeira injeção para ambas as concentrações. Nestas, verificaram-se novamente erros sistemáticos para o dibenzo(a,h)antraceno, relacionados com a temperatura do injetor.

Relativamente à concentração de 50 ppb, onde também foi desprezada a primeira injeção, verificaram-se *RSDs* da média das áreas acima de 10% para quinze dos dezassete compostos, tendo estes uma origem sistemática com base na descalibração do injetor, uma vez que foi injectado uma maior quantidade de amostra na segunda injeção, relativamente à injeção seguinte.

Deste modo, é possível concluir que na análise no modo *Full-Scan*, 4,71% dos compostos assumem valores de *RSD* da média das áreas superiores a 10% para o sistema 2, sendo todos estes erros sistemáticos. Em relação ao sistema 3, verifica-se que 13,10% dos compostos assumem valores de *RSD* da média das áreas superiores a 10%, nos quais 81,82% são classificados como erros sistemáticos e os restantes 18,18% como aleatórios.

Relativamente à análise no modo *SIM*, dos cento e dezanove compostos possíveis de apresentarem valores de *RSD* da média das áreas superiores a 10%, conclui-se que 13,45% estão associados ao sistema 2, dos quais 87,50% estão relacionados com erros sistemáticos e os restantes 12,50% a erros aleatórios. Relativamente ao sistema 3, verifica-se novamente um valor de erros superior ao sistema anterior, no qual 22,69% dos compostos apresentaram valores de *RSD* da média das áreas acima dos 10%, dos quais 85,19% e 14,81% estão relacionados com erros sistemáticos e aleatórios, respectivamente.

Quanto à análise procedida no modo *SRM*, para o sistema 2 verifica-se que 20,30% dos compostos apresentam valores de *RSD* da média das áreas acima dos 10%, dos quais 92,59% estão relacionados com erros sistemáticos e os restantes 7,41% com erros aleatórios. Para o sistema 3, constata-se novamente um aumento, em comparação com o sistema anterior, em relação ao número de compostos que assumem um *RSD* da média das áreas superior a 10%, sendo este valor de 31,58%, dos quais 92,86% correspondem a erros sistemáticos e 7,14% a erros aleatórios.

Desta forma, é possível concluir que independentemente do método de análise utilizado, o sistema 3 comporta sempre mais erros do que o sistema 2.

Relativamente aos compostos onde ocorrem mais falhas, é de notar que estes ocorrem essencialmente para o benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, sendo estes os cinco compostos com maior massa molecular.

Quanto ao número de injeções falhadas, verificou-se para o sistema 2 que no método *Full-Scan*, das quinze injeções realizadas, duas destas obtiveram falhas, nomeadamente para a concentração de 250 e 1000 ppb. Quanto aos métodos *SIM* e *SRM* para o mesmo sistema, verificaram-se falhas em três das vinte e uma injeções para o primeiro, para as concentrações de

5, 30 e 250 ppb, sendo que para o último consideraram-se falhas em duas das vinte e quatro injeções, para as concentrações de 1 e 2 ppb. Neste, não foram contabilizadas as falhas nas concentrações de 5 e 10 ppb, uma vez que para estas concentrações o erro teve como origem a evaporação de solvente, ao contrário das demais, nas quais se verificaram erros de injeção.

Relativamente ao sistema 3, verificou-se que no método em *Full-Scan*, das quinze injeções realizadas, duas destas apresentaram erros de injeção, nomeadamente para as concentrações de 500 e 2000 ppb. Na análise em *SIM*, verifica-se que das vinte e uma injeções realizadas, sete destas exibiram erros de injeção, particularmente para a concentração de 5, 10, 20, 30, 40 e duas das injeções realizadas com a concentração de 250 ppb, uma vez que uma destas não foi bem-sucedida e a outra apresentou valores de área bastante diferentes da restante. Por fim, no método *SRM*, sete das vinte e quatro injeções efectuadas apresentaram erros de injeção, como se verificou para as concentrações de 1, 10, 20, 30, 40 e duas das injeções realizadas com a concentração de 50 ppb, na qual uma apresentou anomalias em todos os HPAs e a outra demonstrou valores de área extremamente diferentes da restante.

Concluindo, é possível realizar um balanço no que concerne às falhas com origem no injector, relativamente a cada sistema, no qual se verificaram menos de metade das falhas para o sistema 2, comparativamente ao sistema 3, onde no primeiro se verificaram que 11,67% das injeções necessitam de ser repetidas, ao que no último sistema esta percentagem de necessidade de repetição de injeções sobe para 26,67%. Deste modo, conclui-se que o sistema 1 não é robusto, pelo facto de se verificarem alteradas as habilidades dos métodos analíticos devido ao elevado tempo de vida do electrómetro, condicionando negativamente os resultados obtidos em cada análise. Relativamente aos sistemas 2 e 3, verifica-se que ambos sofrem alterações consideráveis nos seus métodos analíticos, estando estas associadas à temperatura do injector. Assim, apesar destes dois sistemas serem mais robustos que o sistema 1, conclui-se que todos os métodos poderiam ser mais robustos, apresentando resultados cujos *RSDs* tivessem valores inferiores a 10%.

3.2.8 – Sistema 1 vs Sistema 2

A fim de se conseguirem determinar os rácios de *S/N* obtidos para cada um dos HPAs, foram injectadas amostras destes, com diferentes concentrações, tendo cada uma das injeções sido repetida duas vezes, para uma posterior comparação através de diferentes métodos de ionização, no cromatógrafo Bruker Scion SQ 456 GC/MS.

Na análise realizada no modo *SIM* foram comparados os valores de cinco amostras, com concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 ppb (tabela 3.44) (anexo 32).

Tabela 3.44 - Valores da média de S/N obtidos no método *SIM* para o sistema 1 e 2, para N°=3.

HPA	$\bar{X} S/N$		Sistema 2/Sistema 1
	Sistema 1	Sistema 2	
2-metil-naftaleno	187,29	1056,13	5,64
1-metil-naftaleno	338,37	1126,11	3,33
Acenaftileno	262,29	868,01	3,31
Acenafteno	526,47	1712,94	3,25
Fluoreno	310,53	1640,48	5,28
Fenantreno	414,79	2160,85	5,21
Antraceno	171,25	642,35	3,75
Fluoranteno	187,98	732,82	3,90
Pireno	384,52	1188,98	3,09
Benzo(a)antraceno	284,65	964,87	3,39
Criseno	423,55	1369,40	3,23
Benzo(b)fluoranteno	111,70	525,95	4,71
Benzo(k)fluoranteno	96,23	493,80	5,13
Benzo(a)pireno	44,67	40,95	0,92
Indeno(1,2,3-cd)pireno	42,53	142,50	3,35
Dibenzo(a,h)antraceno	36,34	158,25	4,35
Benzo(g,h,i)perileno	74,31	215,48	2,90

Para cada composto, independentemente da concentração, observa-se que o sistema 2 tem sempre valores superiores em média, assinalados a verde, à exceção do benzo(a)pireno, relativamente à média de S/N, em comparação com o sistema 1. Assim, numa comparação entre os valores obtidos em ambos os sistemas, verifica-se que a média dos rácio de S/N para o sistema 2 consegue ser superior entre 2,90 e 5,64 vezes, para o benzo(g,h,i)perileno e 2-metil-naftaleno, respectivamente, sendo a média total dos dezassete HPAs de 3,81 vezes superior ao sistema 1.

Relativamente a estes 2 sistemas, foi de igual modo realizada uma comparação dos valores obtidos no modo *SRM*, para as mesmas cinco amostras, descritas anteriormente (tabela 3.45) (anexo 33).

Tabela 3.45 - Valores da média de S/N obtidos no método *SRM* para o sistema 1 e 2, para N°=3.

HPA	$\bar{X} S/N$		Sistema 2/Sistema 1
	Sistema 1	Sistema 2	
2-metil-naftaleno	309,65	1127,54	3,64
1-metil-naftaleno	529,10	1232,46	2,33
Acenaftileno	664,18	1417,54	2,13
Acenafteno	445,66	788,09	1,77
Fluoreno	825,42	2490,41	3,02
Fenantreno	456,90	1219,97	2,67
Antraceno	362,79	371,61	1,02

Fluoranteno	807,33	1948,99	2,41
Pireno	1141,21	3468,27	3,04
Benzo(a)antraceno	510,92	1715,00	3,36
Criseno	1014,76	2924,37	2,88
Benzo(b)fluoranteno	109,92	378,52	3,44
Benzo(k)fluoranteno	82,28	327,65	3,98
Benzo(a)pireno	33,87	60,80	1,79
Indeno(1,2,3-cd)pireno	234,31	874,90	3,73
Dibenzo(a,h)antraceno	74,20	371,33	5,00
Benzo(g,h,i)perileno	151,09	222,44	1,47

Tal como se verificou na tabela anterior, para o modo *SRM* também se obtiveram sempre valores médios do rácio de *S/N* superiores em média para o sistema 2, assinalados a verde, oscilando esse valores entre 1,47 e 5,00 para o benzo(g,h,i)perileno e dibenzo(a,h)antraceno, respectivamente, numa média total de 2,81 , para os dezassete HPAs.

Após comparação entre o sistema 1 e o sistema 2, podemos concluir que o electrómetro antigo era inapropriado para se poder realizar uma validação de método, uma vez que o sistema 1 não se revelou linear, nem preciso, para além de que os limites de detecção e de quantificação calculados a partir deste sistema, independentemente do método de ionização utilizado, iriam ter sempre valores bastante superiores aos obtidos nos restantes sistemas.

3.2.9 – Sistema 2 vs Sistema 3

Relativamente aos sistemas 2 e 3, realizou-se de igual modo, uma comparação da média dos rácios de *S/N* entre os diferentes métodos de ionização realizados, para cada um dos HPAs. No método de ionização em *Full-Scan* foram comparados os valores de cinco amostras, com concentrações de 250, 500, 1000, 2000 e 5000 ppb (tabela 3.46) (anexos 34a e 34b).

Tabela 3.46 - Valores da média de *S/N* obtidos no método *Full-Scan* para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$.

HPA	$\bar{X} S/N$		Sistema 3/Sistema 2
	Sistema 2	Sistema 3	
2-metil-naftaleno	143,14	155,71	1,09
1-metil-naftaleno	155,28	174,36	1,12
Acenaftileno	234,60	278,51	1,19
Acenafteno	297,13	367,26	1,24
Fluoreno	318,92	422,25	1,32
Fenantreno	424,26	484,63	1,14
Antraceno	383,02	424,52	1,11
Fluoranteno	394,20	483,37	1,23
Pireno	439,25	529,72	1,21
Benzo(a)antraceno	322,76	466,96	1,45

Criseno	350,39	518,94	1,48
Benzo(b)fluoranteno	227,99	364,92	1,60
Benzo(k)fluoranteno	238,97	370,71	1,55
Benzo(a)pireno	207,55	336,65	1,62
Indeno(1,2,3-cd)pireno	102,73	151,46	1,47
Dibenzo(a,h)antraceno	99,81	181,03	1,81
Benzo(g,h,i)perileno	116,79	152,57	1,31

Para cada composto, independentemente da sua concentração, verifica-se que o sistema 3 tem sempre valores médios superiores, assinalados a verde, relativamente à média de S/N, em comparação com o sistema 2. Desta forma, comparando os valores obtidos em ambos os sistemas, observa-se que a média dos rácios de S/N para o sistema 3 consegue ser superior entre 1,09 e 1,81 vezes, para o 2-metil-naftaleno e dibenzo(a,h)antraceno, respectivamente, sendo a média total dos dezassete HPAs 1,35 vezes superior ao sistema 2.

Relativamente a estes 2 sistemas, foi de igual modo efectuada uma comparação dos valores obtidos no modo *SIM*, para sete amostras, com concentrações compreendidas entre 5 e 250 ppb (tabela 3.47) (anexos 35a e 35b).

Tabela 3.47 - Valores da média de S/N obtidos no método *SIM* para os sistemas 2 e 3, para N'=3.

HPA	X S/N		Sistema 3/Sistema 2
	Sistema 2	Sistema 3	
2-metil-naftaleno	1800,96	2745,95	1,52
1-metil-naftaleno	1813,08	2841,00	1,57
Acenaftileno	1795,01	3051,92	1,70
Acenafteno	3161,82	5045,06	1,60
Fluoreno	3479,75	6632,95	1,91
Fenantreno	4402,24	6236,48	1,42
Antraceno	2197,83	3240,25	1,47
Fluoranteno	1428,69	2455,65	1,72
Pireno	2493,58	3584,91	1,44
Benzo(a)antraceno	2458,30	4235,09	1,72
Criseno	2898,34	5079,24	1,75
Benzo(b)fluoranteno	994,23	1452,21	1,46
Benzo(k)fluoranteno	1010,57	1494,09	1,48
Benzo(a)pireno	323,74	276,26	0,85
Indeno(1,2,3-cd)pireno	299,49	203,61	0,68
Dibenzo(a,h)antraceno	347,66	184,27	0,53
Benzo(g,h,i)perileno	333,24	209,06	0,63

A partir desta tabela é possível verificar que para o sistema 3, tal como na anterior comparação no modo *Full-Scan* (tabela 3.46), foram obtidos valores em média superiores, em

relação à média do rácio de S/N, para os primeiros treze compostos, em comparação com o sistema 2, assinalados a verde, mas valores inferiores para os últimos quatro compostos a serem eluídos da coluna cromatográfica, assinalados a vermelho.

Relativamente aos primeiros treze compostos com menores tempos de retenção, verificou-se que a média dos rácios de S/N para o sistema 3 consegue ser superior entre 1,42 e 1,91 vezes, para o fenantreno e fluoreno, respectivamente. Porém, no que concerne aos quatro compostos com maiores tempos de retenção, verifica-se que a média dos rácios de S/N para o sistema 3 consegue ser inferior entre 0,85 e 0,53, para o benzo(a)pireno e dibenzo(a,h)antraceno, respectivamente, em relação ao sistema 2.

Realizou-se, de seguida, uma comparação entre os valores obtidos no modo *SRM*, para os sistemas 2 e 3, de oito amostras, com concentrações compreendidas entre 1 e 50 ppb (tabela 3.48) (anexos 36a e 36b).

Tabela 3.48 - Valores da média de S/N obtidos no método *SRM* para os sistemas 2 e 3, para N'=3.

HPA	\bar{X} S/N		Sistema 3/Sistema 2
	Sistema 2	Sistema 3	
2-metil-naftaleno	758,44	1542,36	2,03
1-metil-naftaleno	877,55	1563,30	1,78
Acenaftileno	965,67	1344,83	1,39
Acenafteno	537,66	1044,05	1,94
Fluoreno	1654,67	2600,09	1,57
Fenantreno	810,20	1051,53	1,30
Antraceno	248,96	252,75	1,02
Fluoranteno	1310,71	2203,04	1,68
Pireno	2371,97	2898,83	1,22
Benzo(a)antraceno	1114,77	1634,45	1,47
Criseno	1923,33	2480,30	1,29
Benzo(b)fluoranteno	255,01	233,69	0,92
Benzo(k)fluoranteno	220,19	215,42	0,98
Benzo(a)pireno	30,30	14,24	0,47
Indeno(1,2,3-cd)pireno	591,79	248,92	0,42
Dibenzo(a,h)antraceno	247,25	87,51	0,35
Benzo(g,h,i)perileno	159,30	88,49	0,56

Analisando a tabela 3.48, observa-se que se obtiveram valores em média superiores para o sistema 3, em relação à média do rácio de S/N, para os onze primeiros compostos, comparativamente com o sistema anterior, assinalados a verde, mas valores inferiores para os últimos 6 compostos a serem eluídos da coluna cromatográfica, assinalados a vermelho.

Relativamente aos primeiros onze compostos com menores tempos de eluição, constatou-se que a média dos rácios de S/N para o sistema 3 consegue ser superior entre 1,02 e 2,03 vezes,

para o antraceno e o 2-metil-naftaleno, respectivamente. No entanto, no que respeita aos seis compostos com maiores tempos de eluição, observa-se que a média dos rácio de S/N para o sistema 3 consegue ser inferior ao sistema 2 entre 0,98 e 0,35 , para o benzo(k)fluoranteno e dibenzo(a,h)antraceno, respectivamente.

Devido às propriedades específicas para cada um dos *liners*, é possível concluir que o *liner focus* concede melhores resultados, comparativamente ao *liner gooseneck*, relativamente aos compostos com menor número de massa, verificando-se o oposto relativamente ao ao *liner gooseneck*, uma vez que permite a obtenção de sinais maiores, relativamente ao ruído, para os compostos com maior tempo de retenção.

3.2.10 – Full-Scan vs SIM

Relativamente aos valores de S/N obtidos, realizou-se uma comparação entre os vários métodos de ionização utilizados e entre os vários sistemas, de modo a determinar a relação entre a intensidade de sinal obtido com o método de análise.

Deste modo, procedeu-se à comparação dos valores de S/N obtidos entre o modo *Full-Scan* e *SIM*, de uma solução de 250 ppb (tabela 3.49).

Tabela 3.49 - Valores da média de S/N obtidos para a concentração de 250 ppb, no método *Full-Scan* e *SIM*, para os sistemas 2 e 3, com N°= 3.

HPA	Sistema 2		Sistema 3		SIM / Full-Scan	
	Full-Scan	SIM	Full-Scan	SIM	Sistema 2	Sistema 3
2-metil-naftaleno	16,68	7127,68	18,85	11029,00	427,32	585,09
1-metil-naftaleno	22,14	6809,96	26,22	10504,50	307,59	400,63
Acenaftileno	30,31	8089,17	26,62	14240,00	266,88	534,94
Acenafteno	40,31	13296,44	37,89	21570,00	329,85	569,28
Fluoreno	40,12	15920,00	39,38	30045,00	396,81	762,95
Fenantreno	53,98	19596,67	45,95	29445,00	363,04	640,81
Antraceno	47,80	12022,00	31,73	18110,00	251,51	570,75
Fluoranteno	44,80	6221,67	41,42	9977,50	138,88	240,89
Pireno	49,29	11296,67	48,96	13650,00	229,19	278,80
Benzo(a)antraceno	32,68	12193,33	36,61	20090,00	373,11	548,76
Criseno	32,01	13163,33	36,85	22405,00	411,23	608,01
Benzo(b)fluoranteno	20,18	4411,00	16,97	6336,00	218,58	373,36
Benzo(k)fluoranteno	19,71	4507,00	14,39	6456,00	228,67	448,64
Benzo(a)pireno	18,38	2038,33	9,52	1600,50	110,90	168,12
Indeno(1,2,3-cd)pireno	5,40	1338,67	3,79	960,30	247,90	253,38
Dibenzo(a,h)antraceno	9,76	1588,67	N.D.	797,50	162,77	N.D
Benzo(g,h,i)perileno	9,30	1184,67	3,71	679,60	127,38	183,18

N.D. não pode ser determinado

Analisando a tabela 3.49, verifica-se que o método *SIM* permite a obtenção de um rácio entre o S/N bastante superior ao método *Full-Scan*, sendo este maior para o sistema 2 entre 110,90 e 427,32 vezes, para o indeno(1,2,3-cd)pireno e 2-metil-naftaleno, respectivamente, e no sistema 3 entre 168,12 e 762,95 vezes superior ao método *Full-Scan*, para o benzo(a)pireno e fluoreno, respectivamente. Numa comparação entre o valor de S/N obtido para o método *Full-Scan* e *SIM*, verifica-se ainda que para o sistema 3, os valores obtidos para o método *SIM* são consideravelmente superiores aos obtidos no sistema 2, assinalado a verde.

3.2.11 – *SIM* vs *SRM*

Relativamente aos valores de S/N obtidos, realizou-se de igual modo uma comparação inter-métodos para determinar a relação entre a intensidade de sinal obtido com o método de análise.

Deste modo, procedeu-se à comparação dos valores de S/N obtidos entre o modo *SIM* e *SRM*, para uma gama de concentrações entre os 5 e os 50 ppb (tabela 3.50).

Tabela 3.50 - Valores da média de S/N obtidos para uma gama de concentrações entre os 5 e os 50 ppb, no método *SIM* e *SRM*, para os sistemas 2 e 3, com N°= 3.

HPA	Sistema 2		Sistema 3		<i>SRM</i> / <i>SIM</i>	
	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	<i>SIM</i>	<i>SRM</i>	Sistema 2	Sistema 3
2-metil-naftaleno	913,18	981,92	1365,45	2011,72	1,08	1,47
1-metil-naftaleno	980,27	1133,28	1563,75	2030,52	1,16	1,30
Acenaftileno	745,98	1254,77	1187,24	1741,88	1,68	1,47
Acenafteno	1472,72	698,59	2290,91	1358,37	0,47	0,59
Fluoreno	1406,38	2171,47	2730,94	3394,62	1,54	1,24
Fenantreno	1869,84	1064,82	2368,40	1369,13	0,57	0,58
Antraceno	560,47	325,89	761,95	326,92	0,58	0,43
Fluoranteno	629,87	1720,25	1202,01	2888,53	2,73	2,40
Pireno	1026,40	3079,48	1907,40	3751,54	3,00	1,97
Benzo(a)antraceno	835,80	1470,91	1592,61	2147,26	1,76	1,35
Criseno	1187,51	2531,24	2191,62	3247,96	2,13	1,48
Benzo(b)fluoranteno	424,77	333,78	638,24	301,44	0,79	0,47
Benzo(k)fluoranteno	427,83	286,97	667,11	277,69	0,67	0,42
Benzo(a)pireno	37,98	45,37	55,56	16,11	1,19	0,29
Indeno(1,2,3-cd)pireno	126,30	777,80	77,50	325,40	6,16	4,20
Dibenzo(a,h)antraceno	140,83	325,07	82,06	113,06	2,31	1,38
Benzo(g,h,i)perileno	191,34	201,13	130,64	109,49	1,05	0,84

Após análise da tabela 3.50, verifica-se de um modo geral que o método *SRM* fornece maiores rácios de S/N do que o método *SIM*. Para além disso, constata-se que para o método *SRM*, o sistema 2 oferece melhores resultados comparativamente com o sistema 3, podendo este facto

estar relacionado com o tipo de *liner* utilizado em cada um dos sistemas, uma vez que esta predominância que se verifica para o sistema 2, relativamente ao rácio obtido entre o S/N no modo *SRM* e no modo *SIM*, se acentua principalmente nos compostos com maior tempo de retenção, tal como se verificou anteriormente na tabela 3.50.

3.3 - Optimização Agilent 7890 A

A optimização do sistema cromatográfico realizou-se para 1D-GC-FID, a partir da injeção de uma mistura de padrões que compõe a solução de Grob e de uma mistura de padrões de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀ e C₈-C₄₀). Relativamente ao GCxGC-FID, foram de igual modo injectadas as soluções de Grob e de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀), tendo sido ajustado o período de modulação e o tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios, de modo a determinar as condições de optimização dos HPAs.

3.3.1 - Optimização 1D-GC-FID

A optimização deste sistema cromatográfico realizou-se, de igual modo à realizada em GC/MS, na qual foram injectadas uma mistura de padrões que compõe a solução de Grob e uma mistura de padrões de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀ e C₂₁-C₄₀).

3.3.1.1 - Teste de Grob

A partir da injeção da solução de Grob (figura 3.13), foi calculado o número de Trennzahl, a partir da fórmula: $TZ = \left\lfloor \frac{RT(n+1) - RT(n)}{Wh(n+1) - Wh(n)} \right\rfloor - 1$, onde se determinou que entre o metil-decanoato e o metil-undecanoato seriam possíveis de ser separados até um total de 37 compostos, substituindo na equação $TZ = \left\lfloor \frac{18,76 - 15,72}{2,46 - 2,54} \right\rfloor - 1$ e entre o metil-dodecanoato e metil-undecanoato até um total de 13,55 compostos, substituindo na equação $TZ = \left\lfloor \frac{21,67 - 18,76}{2,66 - 2,46} \right\rfloor - 1$, num máximo de 80 para cada um dos pares de ésteres metílicos homólogos (anexo 37).

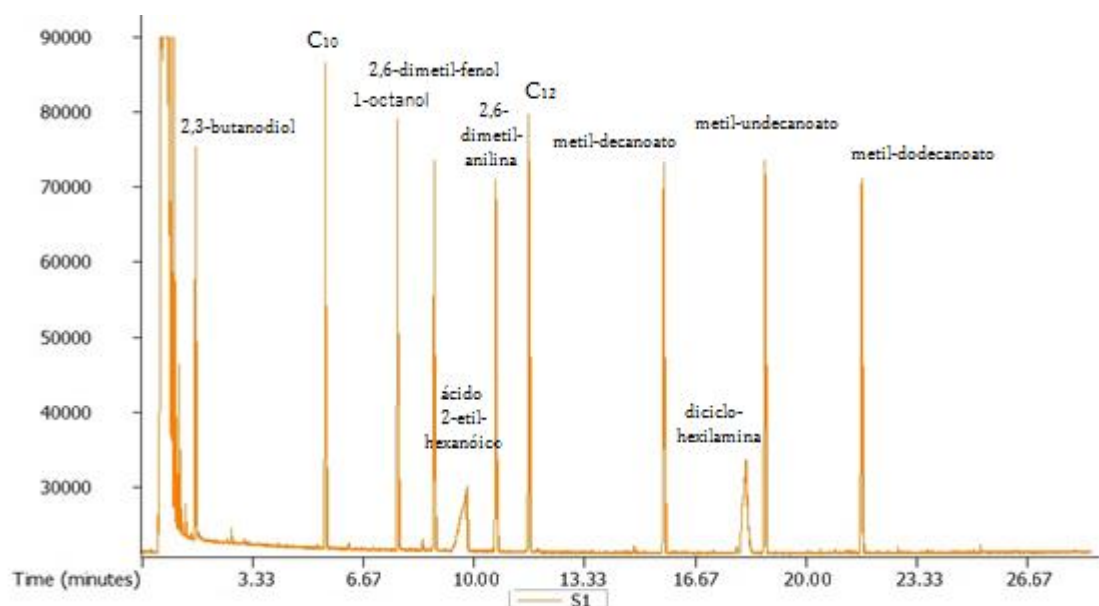


Figura 3.13 - Cromatograma da solução de Grob em 1D-GC-FID.

Assim, uma vez que existem dois pares homólogos de ésteres metílicos, é possível afirmar que, num total máximo de 160 compostos que seriam possíveis de separar inicialmente neste conjunto de colunas, são possíveis de separar neste momento, um total de cerca de 51 compostos. Desta forma, é possível afirmar que este conjunto de colunas está com cerca de dois terços do seu tempo total de utilização. No entanto, apesar deste conjunto de colunas ter um tempo de utilização superior à coluna utilizada no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrómetro de massa, e deste modo, conseguir separar um menor número de compostos, este ainda está apto para proceder eficazmente com as separações cromatográficas.

3.3.1.2 – Hidrocarbonetos

Após a injeção da solução de Grob, foi injectada uma mistura de padrões de hidrocarbonetos, do C₈-C₂₀ (figura 3.14), a fim de se determinar a temperatura de eluição de cada um destes compostos. Seguidamente, foi injectada uma mistura de padrões de hidrocarbonetos, do C₈-C₄₀ (figura 3.15), para posteriormente se determinarem os *LRI*s para cada HPA (anexo 38).

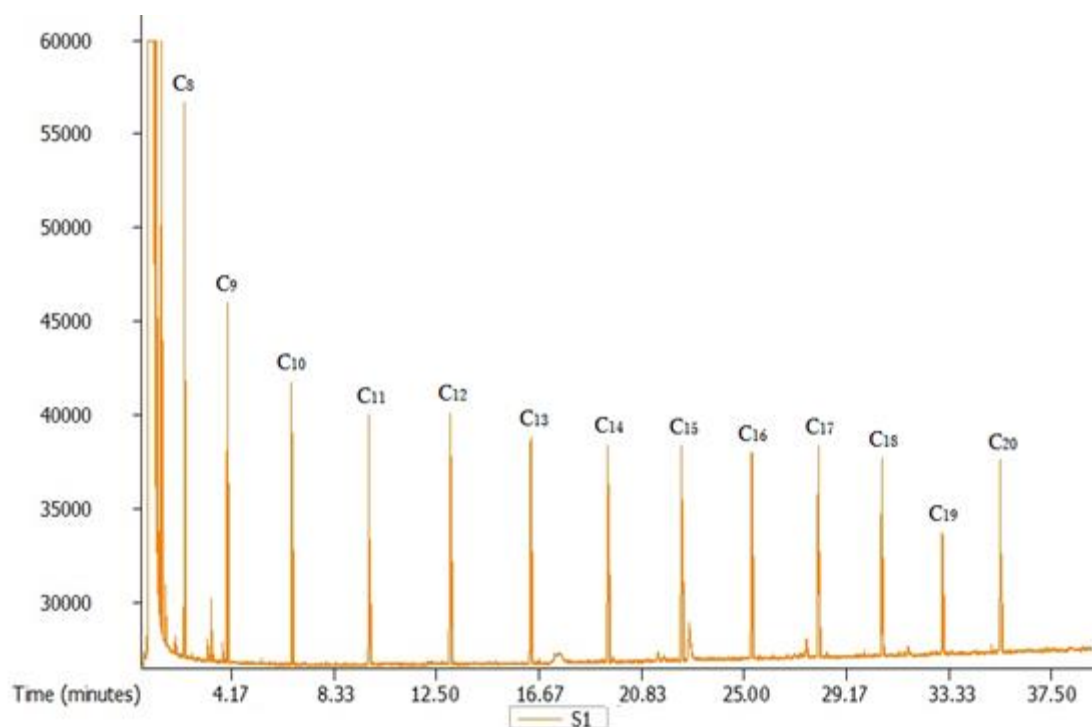


Figura 3.14 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀), respectivamente identificados, em 1D-GC-FID.

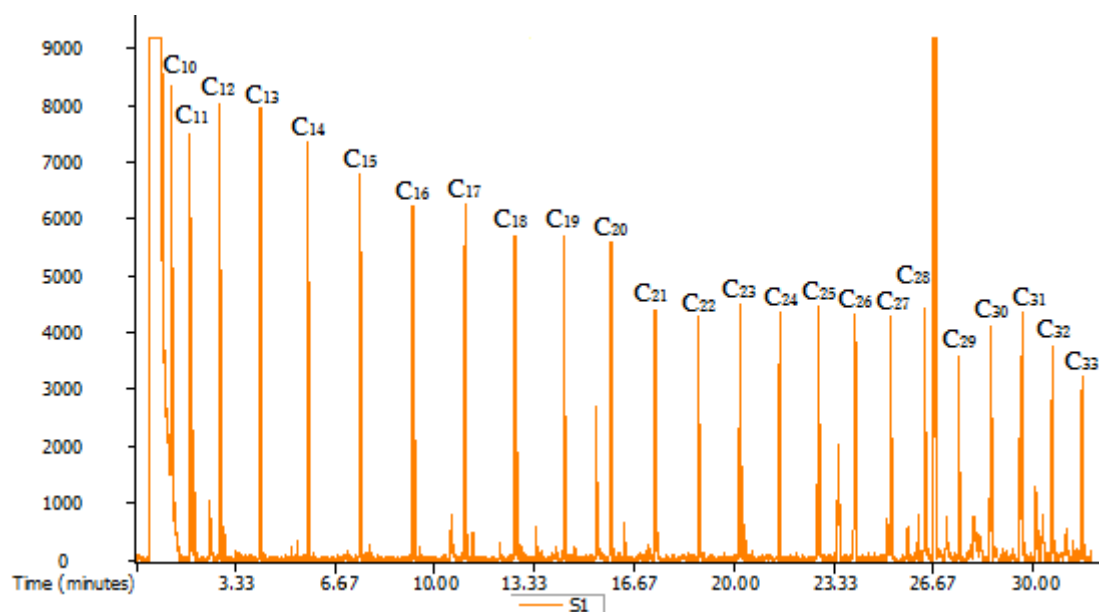


Figura 3.15 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₁₀-C₃₃), respectivamente identificados, em 1D-GC-FID.

3.3.1.3 – HPAs

Após os hidrocarbonetos, foi injectada uma solução de HPAs, com a concentração de 10 ppm, ao qual se sobrepôs o cromatograma referente aos hidrocarbonetos (figura 3.16), a fim de se determinarem os *LRI*s para cada um dos HPAs.

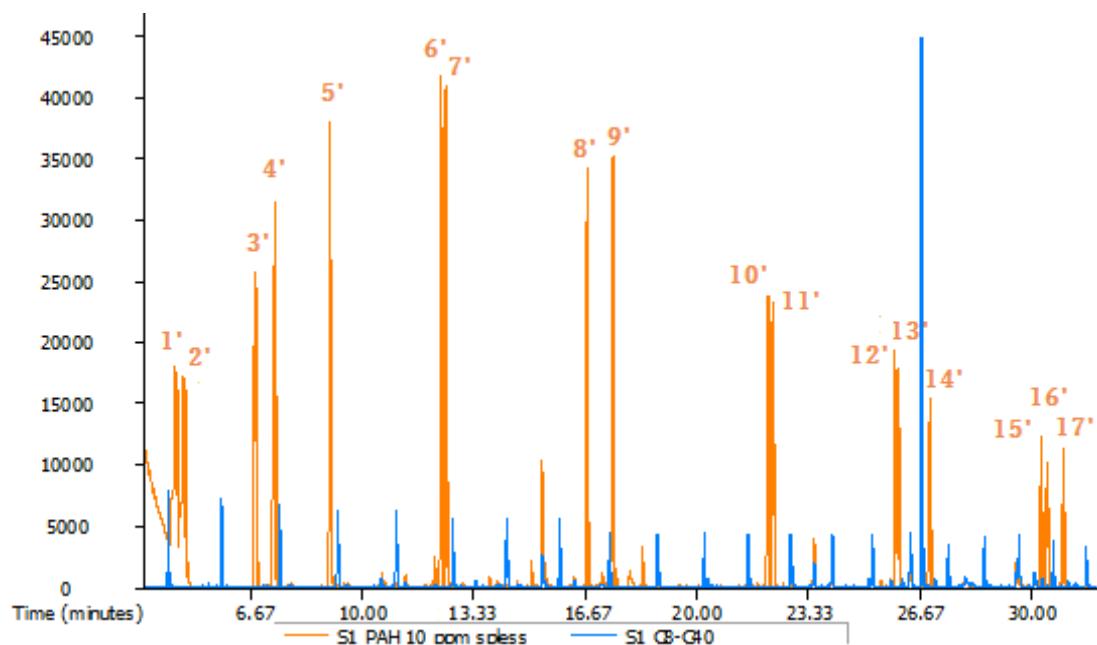


Figura 3.16 - Cromatogramas da solução de HPAs, a laranja, e de hidrocarbonetos (C₁₃-C₃₃), a azul, em 1D-GC-FID.

Após sobreposição dos cromatogramas da solução de hidrocarbonetos e da solução de HPAs foram determinados os *LRI*s, com base nos tempos de retenção dos hidrocarbonetos anteriores e posteriores a cada um deles (anexo 39).

3.4 – Optimização GCxGC-FID:

De modo a se determinar o período de modulação ideal e o rácio entre o tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios, de modo a determinar as condições de optimização dos HPAs, foi injectada em GCxGC-FID uma mistura de padrões que compõe a solução de Grob e outra amostra de padrões de hidrocarbonetos (C₈-C₂₀) com diferentes períodos de modulação e diferentes tempos de activação dos jactos.

3.4.1 - Teste de Grob

Relativamente à mistura de Grob, procedeu-se à optimização do período de modulação, sendo este de 4 segundos, de forma a determinar o rácio ideal entre o tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios, para que os compostos presentes na solução de Grob não ficassem retidos entre a primeira e a segunda coluna, sofrendo deste modo *wrap-around*, nem que estes apresentassem picos assimétricos, devido ao arrastamento dos mesmos.

Assim, procedeu-se inicialmente à análise dos picos com um $P_M = 4$ segundos, activando os jactos quentes e frios durante 0,05 e 1,95 segundos, respectivamente (figura 3.17).

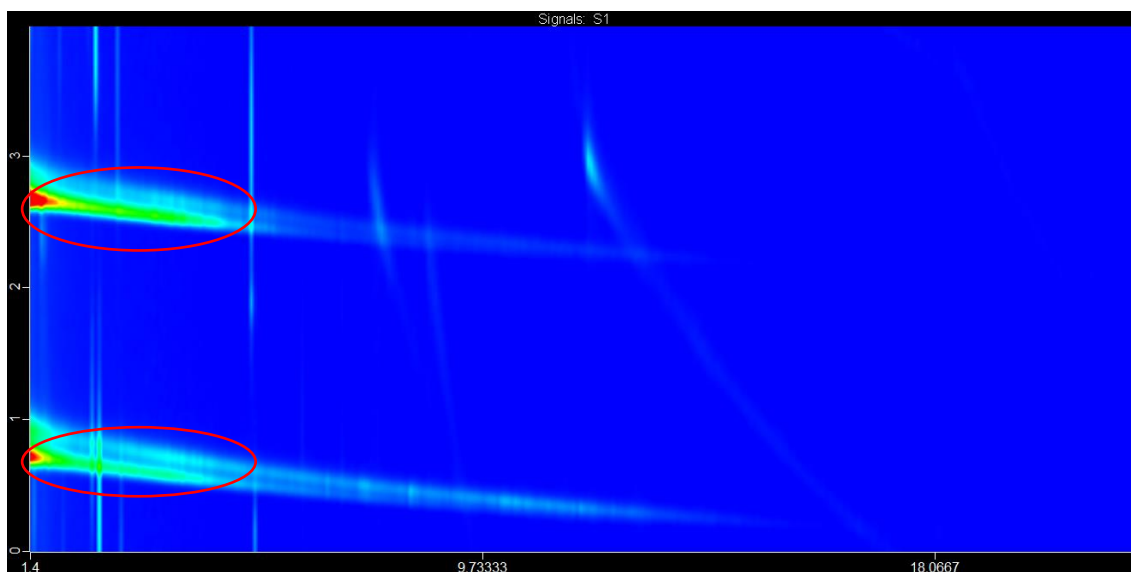


Figura 3.17 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, com 0,05 e 1,95 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (2,5% - 97,5%).

Analisando este cromatograma, é perceptível a ausência de compostos, presentes na solução de Grob. Para além disso, verifica-se o arrastamento dos picos do solvente, assinalados a vermelho, que se traduz por um problema de modulação, uma vez que o tempo de funcionamento dos jactos quentes foi demasiado reduzido.

Deste modo, procedeu-se à optimização do modulador aumentando o tempo de activação dos jactos quentes e, por sua vez, diminuindo o tempo de funcionamento dos jactos frios, estando estes activos durante 0,34 e 1,66 segundos, respectivamente, de forma a que ocorresse modulação dos compostos (figura 3.18) (anexo 37).

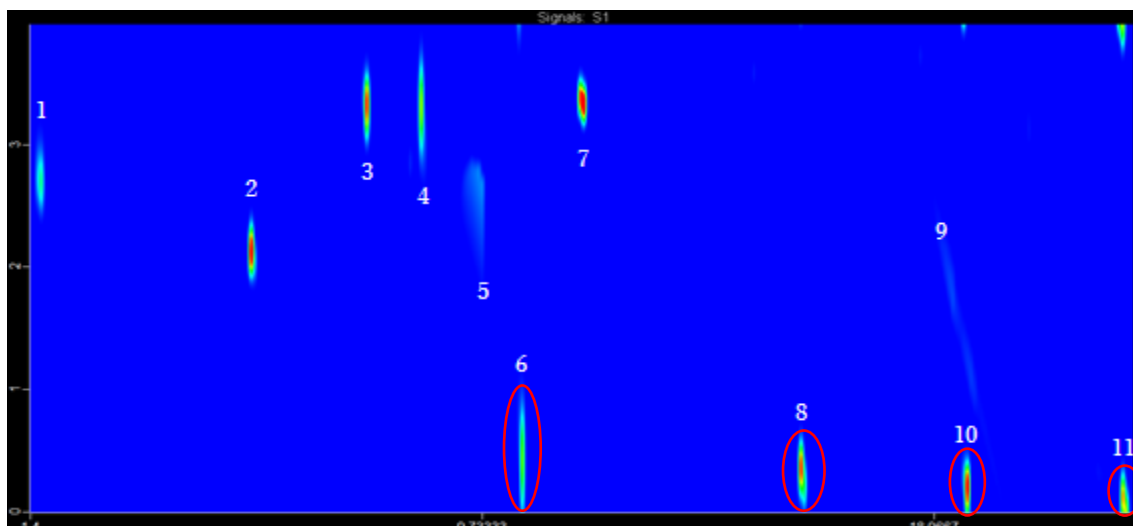


Figura 3.18 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 0,34 e 1,66 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (17% - 83%).

Através da análise deste cromatograma, constata-se que ocorreu modulação dos compostos. No entanto, verifica-se que a 2,6-dimetil-anilina (6) e os três ésteres metílicos (8, 10 e 11), assinalados a vermelho, sofrem *wrap-around*, sendo eluídos para a segunda dimensão no ciclo de modulação seguinte. Este evento ocorre devido ao escasso tempo de funcionamento dos jactos quentes, que deste modo permite que os compostos não sejam devidamente libertados para a segunda coluna dentro do ciclo de modulação adequado.

Seguidamente, procedeu-se à optimização do modulador aumentando o tempo de funcionamento dos jactos quentes e, por sua vez, diminuindo o tempo de funcionamento dos jactos frios, estando estes activos durante 0,50 e 1,50 segundos, respectivamente (figura 3.19) (anexo 37).

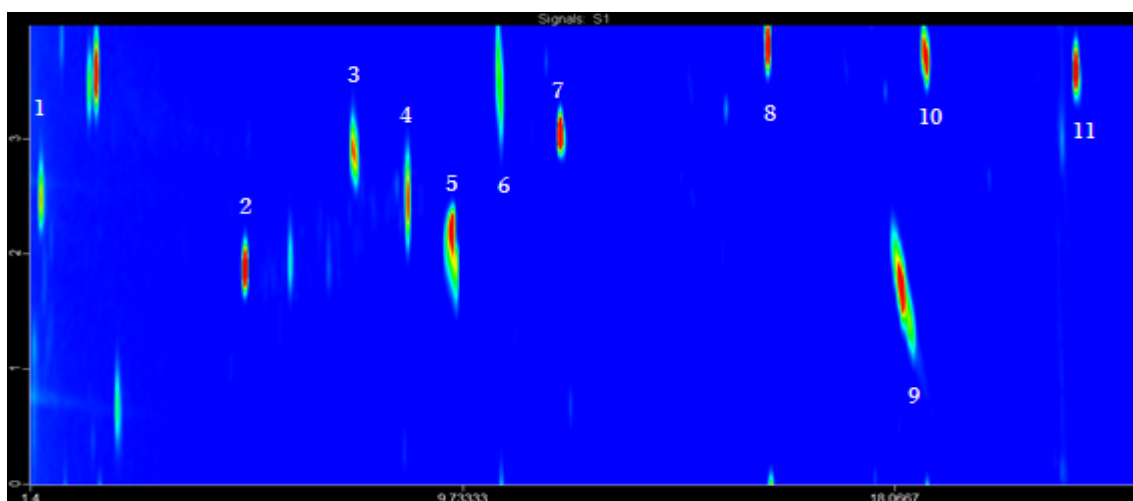


Figura 3.19 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 0,50 e 1,50 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (25% - 75%).

A partir deste cromatograma, verifica-se que a 2,6-dimetil-anilina e os três ésteres metílicos já não são eluídos dentro do ciclo de modulação seguinte, evitando assim o *wrap-around*, uma vez que o aumento de tempo de funcionamento dos jactos quentes originou a libertação destes compostos para a segunda coluna dentro do ciclo de modulação adequado.

Assim, e não considerando os interferentes que se verificam neste cromatograma, uma vez que estes não estão relacionados nem com o período de modulação nem com o rácio de funcionamento dos jactos, é possível observar que, ao contrário da figura 3.18, todos os onze compostos presentes na solução de Grob são eluídos correctamente, dentro do seu ciclo de modulação e apresentam simetria nos picos obtidos. Assim, conclui-se que este rácio de activação de 1:3, para jactos quentes e frios, respectivamente, é apropriado para se separar em duas dimensões todos os compostos presentes na solução de Grob (figura 3.20) (anexo 37).

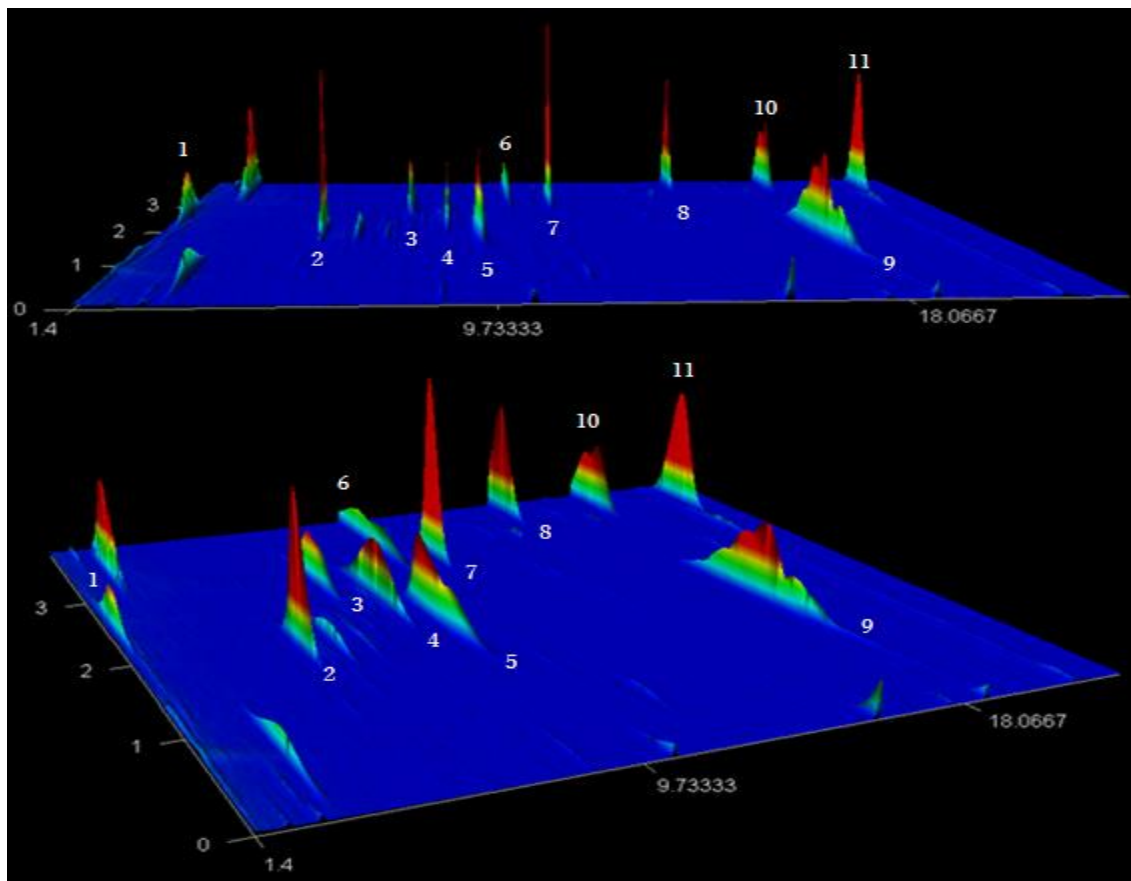


Figura 3.20 - Cromatograma com diferentes perspectivas a 3 dimensões da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 0,34 e 1,66 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (25% - 75%).

De forma a concluir se esta seria a melhor optimização para a solução de Grob, relativamente ao tempo de activação dos jactos quentes e frios, foi aumentado e diminuído o tempo de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente, estando estes activos durante o mesmo período de tempo, equivalente a 1 segundo (figura 3.21) (anexo 37).

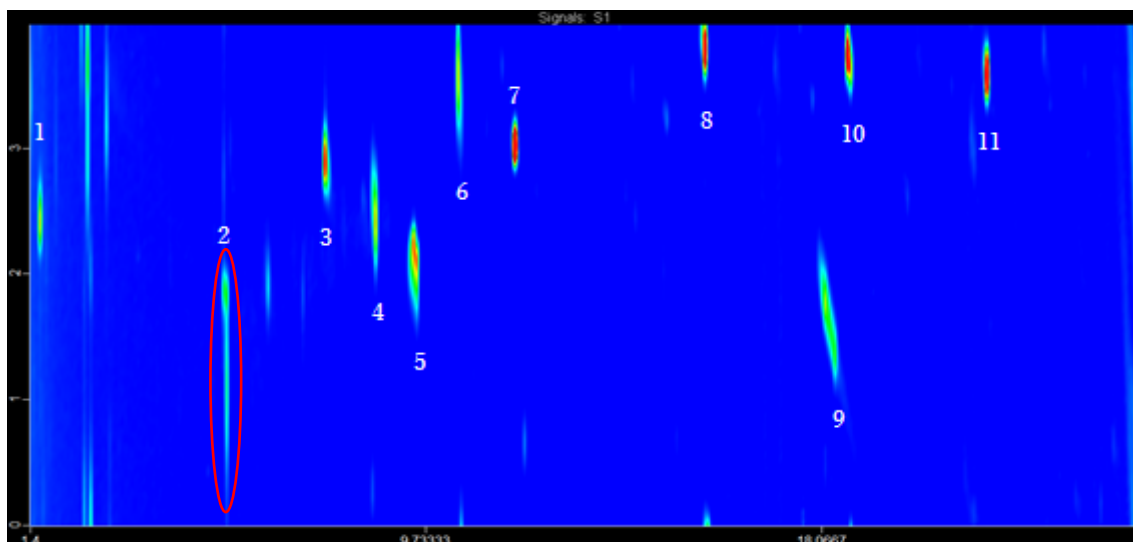


Figura 3.21 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, devidamente identificados, com 1 segundo de activação dos jactos quentes e frios (50% - 50%).

Após análise deste cromatograma, constata-se que o decano (2), assinalado a vermelho, começa a não ser devidamente criofoçado, devido ao escasso tempo de funcionamento dos jactos frios, como consequência da diminuição do tempo de activação dos jactos frios, traduzindo-se assim num grande arrastamento do pico.

De forma a comprovar se este evento ocorreria devido ao escasso tempo de activação dos jactos frios, foi aumentado novamente, o tempo de activação dos jactos quentes e diminuído o tempo de activação dos jactos frios, estando estes activos durante 1,50 e 0,50 segundos, respectivamente (figura 3.22).

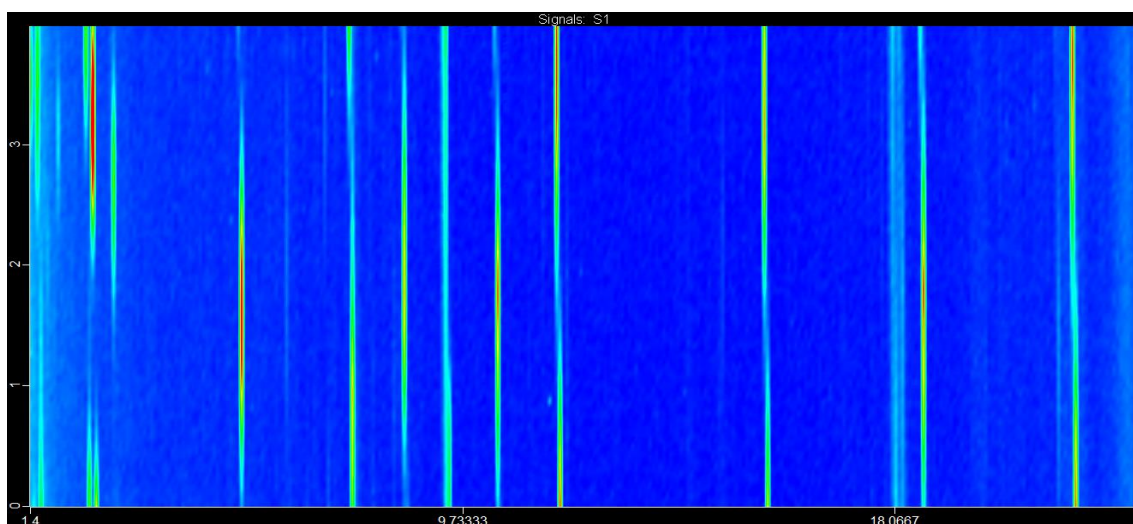


Figura 3.22 - Cromatograma da mistura de padrões que compõe a solução de Grob, com 1,50 e 0,50 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (75% - 25%).

De igual modo, após análise do cromatograma, verifica-se que a diminuição do tempo de activação dos jactos frios origina um enorme arrastamento dos picos, que se traduz pela ausência da criofocagem entre a primeira e segunda coluna, devido ao reduzido tempo de activação dos jactos frios.

Deste modo, verifica-se que o tempo de funcionamento dos jactos influencia toda a modulação realizada. Assim, caso o tempo de funcionamento dos jactos frios seja bastante superior ao dos jactos quentes, poderá ocorrer *wrap-around* para alguns compostos, uma vez que os compostos não são eluídos dentro do devido ciclo de modulação. Por outro lado, caso o tempo de funcionamento dos jactos quentes seja bastante superior ao dos jactos frios, os compostos não conseguem ser criofocados entre a primeira e a segunda coluna, originando picos com um perfil alongado, passando estes para a segunda coluna sem que sejam anteriormente retidos. Deste modo, uma vez optimizado o tempo de activação para ambos os jactos, os compostos deverão ser eluídos dentro do seu ciclo de modulação, apresentando cada composto uma forma mais arredondada, quanto maior for a afinidade com a fase estacionária da segunda coluna.

3.4.2 – Hidrocarbonetos

Relativamente aos hidrocarbonetos, realizou-se a optimização do período de modulação, sendo este de 5 segundos, para uma mistura de padrões do C₈-C₂₀ (no qual só foi possível visualizar a eluição até ao C₁₉, uma vez que o programa de temperatura utilizado terminava antes de ocorrer a eluição do C₂₀), tendo sido ajustado o tempo de funcionamento dos jactos quentes e jactos frios.

Tal como anteriormente, iniciou-se a alternância entre o tempo de activação dos jactos quentes e frios, de 0,06 e 2,44 segundos, respectivamente (figura 3.23).

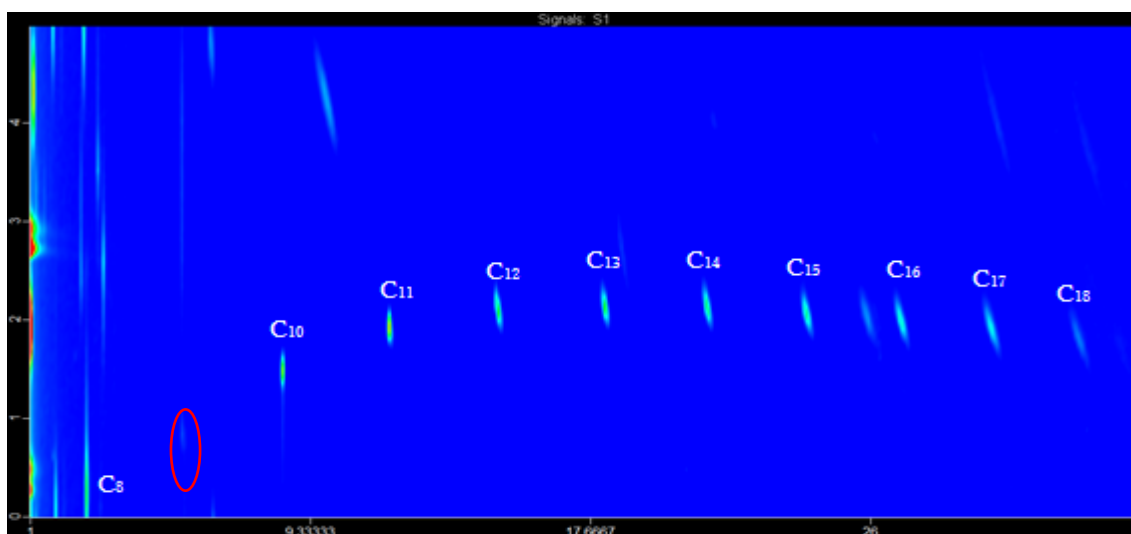


Figura 3.23 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₈-C₁₉), devidamente identificados, 0,06 e 2,44 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (2,4% - 97,6%).

Analisando este cromatograma, verifica-se que a eluição do C₉ é quase imperceptível, assinalado a vermelho, tal como a inexistência do C₁₉, que se explica devido a problemas de modulação, uma vez que o tempo de funcionamento dos jactos quentes foi demasiado reduzido.

Assim, procedeu-se à optimização do modulador através do aumento do tempo de funcionamento dos jactos quentes e diminuição do tempo de funcionamento dos jactos frios, estando estes activos durante 0,42 e 2,08 segundos, respectivamente (figura 3.24).

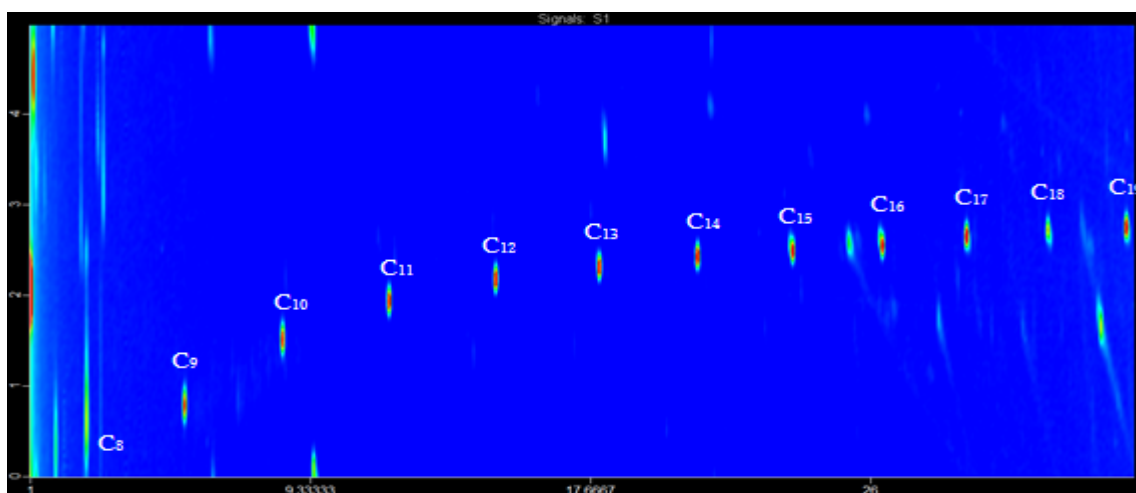


Figura 3.24 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₈-C₁₉), devidamente identificados, 0,42 e 2,08 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (16,8% - 83,2%).

Após análise deste cromatograma, verifica-se que à excepção do C₈, todos os hidrocarbonetos são eluídos correctamente. No entanto, foram obtidos cromatogramas bastante semelhantes a este, para períodos de funcionamento dos jactos quentes e frios de 0,63 e 1,87 segundos, respectivamente (figura 3.25) e de 1,25 segundos para ambos os jactos (figura 3.26).

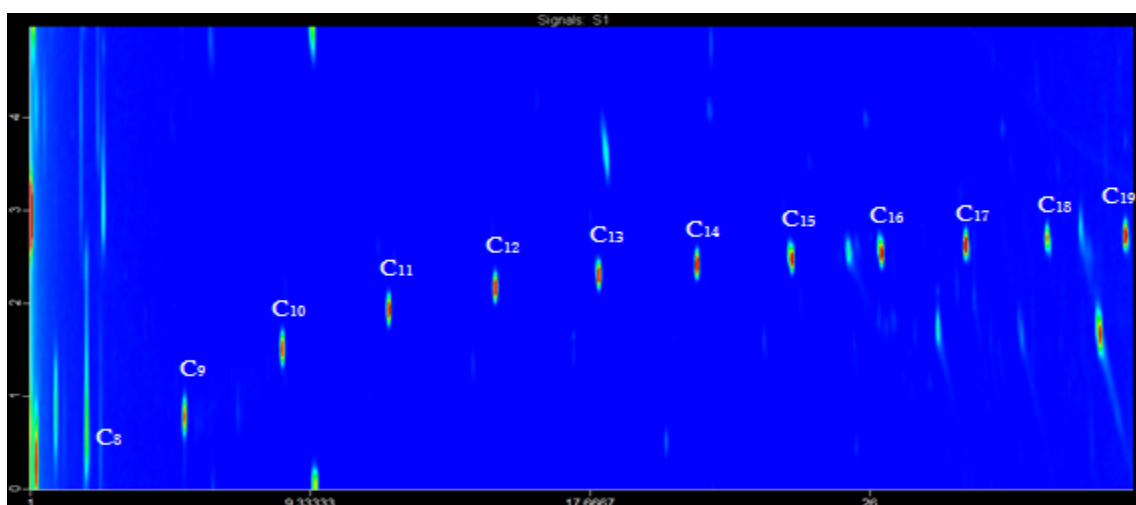


Figura 3.25 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₈-C₁₉), devidamente identificados, 0,63 e 1,87 segundos de activação dos jactos quentes e frios, respectivamente (25,2% - 74,8%).

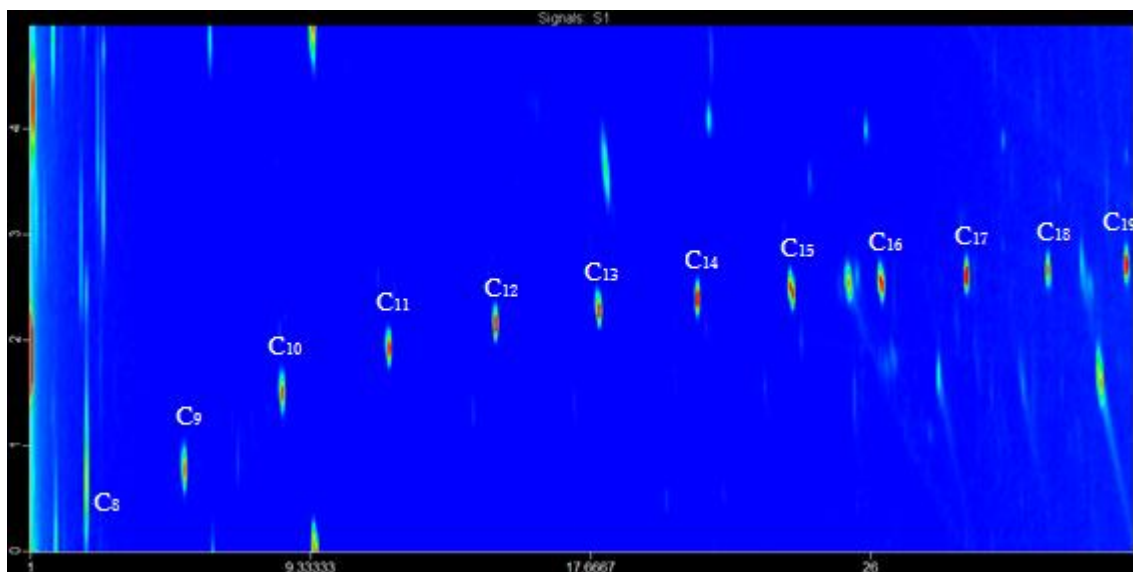


Figura 3.26 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₈-C₁₉), devidamente identificados, com 1,25 segundos de ativação dos jactos quentes e frios (50% - 50%).

No entanto, tal como acontecia para a solução de Grob, quando o período de funcionamento dos jactos quentes é muito superior ao dos jactos frios, verifica-se que alguns compostos são eluídos durante um período de tempo superior ao esperado, revelando um arrastamento dos picos, nomeadamente para o C₉ (figura 3.27).

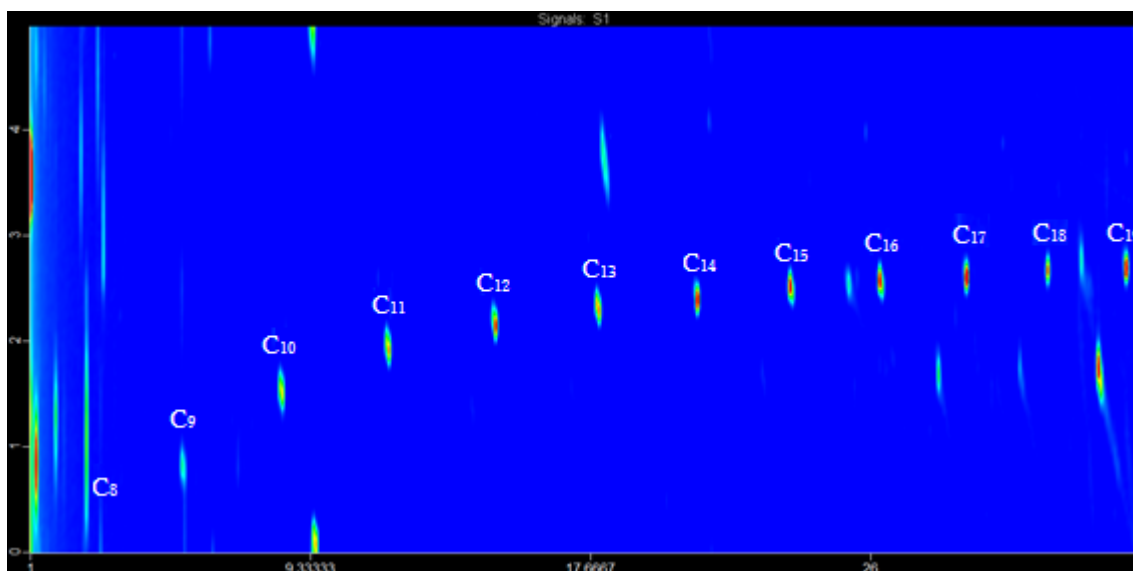


Figura 3.27 - Cromatograma da solução de hidrocarbonetos (C₈-C₁₉), devidamente identificados, com 1,87 e 0,63 segundos de ativação dos jactos quentes e frios, respectivamente (74,8% - 25,2%).

Com base na análise dos vários cromatogramas obtidos nos quais se alterou o tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios, é possível concluir que num rácio entre 1,00:4,95 (17% - 83%) e de 1:1 (50% - 50%), não se verifica uma grande diferença, uma vez que todos os compostos eluídos têm a mesma polaridade.

No entanto, não foi possível continuar a otimizar o modulador a fim de se obterem dados relativos à modulação para um $P_M = 4$ segundos para os hidrocarbonetos, devido a problemas técnicos que surgiram com o modulador, inviabilizando assim o processo de otimização.

3.4.3 – HPAs

Relativamente aos HPAs, estes não foram injectados em modo bidimensional abrangente (GCxGC-FID), devido a problemas no modulador, o que condicionou os dados deste trabalho.

Inicialmente, após intervenção técnica, verificou-se que um dos dois jactos do sistema de criofocação estava entupido, razão pela qual não foi possível modular estes compostos.

Deste modo, e uma vez que este trabalho foi realizado dentro de um prazo de entrega previamente definido, não foi possível dar continuidade ao estudo dos HPAs em cromatografia gasosa bidimensional abrangente, não tendo sido possível a conclusão dos mesmos dentro do prazo.

Porém, com base nas optimizações realizadas para a solução de Grob e hidrocarbonetos, é possível antever que a optimização do modulador para os HPAs deverá corresponder a um período de modulação de 4 segundos, com um rácio de funcionamento entre os jactos quentes e frios de 25% - 75% (1:3), uma vez que este apresentou bons resultados tanto para os compostos polares da solução de Grob, como para os compostos apolares que são os hidrocarbonetos. Portanto, uma vez que os HPAs são compostos apolares, prevê-se que este rácio de activação entre jactos quentes e frios resulte na optimização da modulação dos mesmos.

Capítulo 4

Conclusões:

Este trabalho foi elaborado com o objectivo de se optimizarem os parâmetros em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) e em cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector de ionização por chama (GCxGC-FID). Para tal, foi utilizada uma amostra padrão de HPAs, tendo sido realizada uma validação do método para estes compostos em GC/MS.

Esta optimização passou pela obtenção do melhor desempenho possível tanto do cromatógrafo gasoso como do espectrómetro de massa.

No cromatógrafo, a optimização realizou-se tendo sido realizadas duas modificações no sistema cromatográfico inicial, ao qual se denominaram por sistema 1, sistema 2 e sistema 3. O sistema 1 era composto, para além de outros elementos, por um electrómetro com algum tempo de uso e por um *liner gooseneck*. A primeira de duas alterações neste sistema ocorreu através da alteração do electrómetro, ao qual posteriormente este se denominou por sistema 2. A segunda alteração baseou-se na alteração do *liner gooseneck* por um *liner focus*, designando-se este como sistema 3.

No espectrómetro de massa, a optimização executou-se através da utilização de três métodos de ionização distintos, um semi-selectivo (*Full-Scan*) e os restantes dois selectivos (*SIM* e *SRM*).

Desta forma, procedeu-se inicialmente à validação de método no sistema 1, para os três métodos de ionização. Assim, este sistema não se verificou linear, nem preciso, revelando-se heteroscedástico, uma vez que se observou uma forte dispersão dos dados obtidos em toda a gama analítica.

Relativamente aos sistemas 2 e 3, estes apresentaram resultados fidedignos na validação do método, revelando-se específicos, selectivos, lineares, e precisos, para além de exactos de uma forma geral para todos os compostos e para ambos os métodos de ionização, nas gamas médias e altas. Nas gamas de trabalho mais baixas estes revelaram-se pouco exactos, o que é expectável, uma vez que se verifica um aumento do fenómeno de heteroscedasticidade com a diminuição da concentração das amostras. Em relação à robustez, apesar do sistema 2 se revelar mais robusto do que o sistema 3, ambos apresentaram sinais de baixa robustez para os compostos com maior massa molecular, podendo este facto ser associado à baixa temperatura utilizada do injector (250 °C).

Deste modo, observa-se que o *liner focus* fornece melhores rácios de S/N relativamente ao *liner gooseneck*, para os HPAs com menor massa molecular. Para além disso, é notável que essa melhoria de resultados relativamente ao *liner focus*, também se verifica para os restantes

HPAs, com maior maior massa molecular, com a diminuição da selectividade do método de ionização.

Em suma, é possível concluir que tanto o sistema 2 como o 3 são indicados para se proceder ao processo de validação, garantindo assim qualidade e credibilidade em relação aos resultados obtidos, tornando-os válidos.

Como perspectivas futuras deverá ser realizada uma validação de método para os HPAs, dentro de todos os parâmetros que a definem, nos sistemas 2 e 3, sendo utilizada uma temperatura de injeção acima dos 250 °C, por exemplo a 270 °C, para que não se verifique uma discriminação relativamente aos HPAs com maior massa molecular. Para além disso, todas as repetições das injeções deverão ser realizadas em *vials* diferentes, uma vez que, apesar da temperatura do laboratório estar climatizada nos 22 °C, ocorre sempre evaporação do solvente, ainda que ligeira, caso estas sejam realizadas todas no mesmo *vial*, originando uma discrepância nas áreas obtidas para cada repetição.

De seguida, verificou-se se o programa de temperatura utilizado para os HPAs em GC/MS era o indicado para se realizar a separação dos compostos em 1D-GC-FID. Confirmando-se este parâmetro cromatográfico como ideal para se efectuar à separação dos compostos, procedeu-se à optimização dos parâmetros cromatográficos em GCxGC-FID.

Neste, a optimização evidenciou-se no modulador, no qual se fez variar o período de modulação e o tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios. Deste modo, após análise de uma amostra de compostos presentes na solução de Grob, sendo estes maioritariamente polares, tal como na análise de hidrocarbonetos, sendo estes apolares, obteve-se um rácio de 1:3, relativamente ao tempo de funcionamento dos jactos quentes e frios, respectivamente, que se considerou ideal para se realizar uma separação eficaz.

No entanto, não foi possível proceder ao estudo dos mesmos para períodos de modulação iguais, tendo sido utilizado um período de modulação de 4 e de 5 segundos para a solução de Grob e de hidrocarbonetos, respectivamente. Tal como para estes, também não foi possível proceder à análise dos HPAs em GCxGC-FID, uma vez que foram surgindo várias adversidades neste sistema, passando inicialmente por um entupimento num dos jactos do modulador, tendo-se verificado posteriormente outro contratempo, relativamente à falta de ligação que impediu a conexão entre o modulador com o computador.

Assim, relativamente ao estudo dos HPAs por cromatografia gasosa bidimensional abrangente, este trabalho revelou-se incompleto, abrindo perspectivas futuras para dar continuidade ao mesmo.

Capítulo 5

Referências:

- 1) Poole C.; *Gas Chromatography*, Elsevier, 2012, I edição, 13-15, 20, 24, 161, 162, 170-179, 224, 442, 443, 524
- 2) Ramos L.; Brinkman U.; *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier, 2009, 55, 3,5, 8-10, 26, 29, 33-34, 292-293
- 3) Fidelis C.; *Scientia Chromatographica*, 2011, **3**, IV edição, 291-298
- 4) Taylor T.; LCGC North America, 2012, **30**, IX edição, 870
- 5) Holm T.; *Journal of Chromatography A*, 1999, **842**, 221-227
- 6) Lesellier E.; West C.; *Journal of Chromatography A*, 2015, **1382**, 2-46
- 7) Borówko M.; Oscik-Mendyk B.; *Chromatographia*, 2004, **60**, 51-57
- 8) Gumustas M.; Kurbanoglu S.; Uslu B.; *Chromatographia*, 2013, **76**, XXI edição, 1365-1427;
- 9) Seeley J.; Kramp F.; Sharpe K.; *Journal of Separation Science*, 2001, **24**, VI edição, 444
- 10) Berezkin V.; Zeeuw J.; *Capillary Gas Adsorption Chromatography*, Wiley-VCH, 1998, I edição, 57-58
- 11) Beens J.; Boelens H.; Tijssen R.; *Journal of High Resolution Chromatography*, 1998, **21**, I edição, 47-54
- 12) Pursch M.; Eckerle P.; Biel J.; Streck R.; *Journal of Chromatography A*, 2003, **1019**, 43-51
- 13) Rotzsche H.; *Stationary Phases in Gas Chromatography*, *Journal of Chromatography Library*, Elsevier Science, 1991, **48**, 1, 2, 85
- 14) Liu Z.; Phillips J.; 1991, **29**, VI edição, 227-231
- 15) Blumberg, L.; David F.; Klee S.; *Journal of Chromatography A*, 2008, **1188**, I edição, 2-16
- 16) Giddings J.; *Analytical Chemistry*, 1967, **39**, 1027-1028
- 17) Shen Y.; Lee M.; *Analytical Chemistry*, 1998, **70**, XVIII edição, 3853-3856
- 18) Seeley J.; Micyus N.; Bandurski S.; *Analytical Chemistry*, 2007, **79**, V edição, 1840-1847
- 19) Barcaru A.; Anroedh-Sampat A.; Janssen H.; *Journal of Chromatography A*, 2014, **1368**, 190-198
- 20) Dalluge J.; Beens J.; Brinkman U.; *Journal of Chromatography A*, 2003, **1000**, 69-108
- 21) Seeley J.; Kramp F.; Hicks C.; *Analytical Chemistry*, 2000, **72**, 4346-4352

- 22) Muhlen C.; Zini C.; Camarão E.; Química Nova, 2007, **30**, III edição, 682-687
- 23) Seeley J.; Journal of Chromatography A, 2002, **962**, 21-27
- 24) Adahchour M.; Beens J.; Vreuls R.; Analytical Chemistry, 2006, **25**, V edição, 438-454
- 25) Hubschmann H.; *Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications*, Wiley-VCH, 2015, III edição, 104, 166, 178-182, 284, 306-313, 317, 467, 469
- 26) Poole CF. *The essence of chromatography*. Amsterdã: Elsevier; 2003, 83-86, 763
- 27) Abraham M.; Poole C.; Poole S.; Journal of Chromatography A, 1999, **842**, 79-114
- 28) Harris D.; *Quantitative Chemical Analysis*, W. H. Freeman, 2010, VIII edição, 502, 519, 522-526, 566, 573-575
- 29) http://www.shimadzu.com/an/scanmode_simmode.html - site consultado a 22-08-2016
- 30) Cristale J.; Silva F.; Marchi M.; Eclética Química, 2008, **33**, IV edição, 69-78
- 31) Marcé R.; Borrull F.; Journal of Chromatography A, 2000, **885**, 273-290
- 32) Bojes H.; Pope P.; Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2007, **47**, 288-295
- 33) *Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, U.S Department of Healty and Human Services – Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1995, 1-2, 6-7
- 34) *Validação de Métodos Internos de ensaio em Análise Química*, Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal, 2000, 6, 7, 8, 13-14, 21, 30, 36
- 35) LCGC Editors; LCGC North America, 2013, **31(1)**, 1026
- 36) Grob Jr. K.; Grob G.; Grob K.; Journal of Chromatography A, 1978, **156(1)**, 1-20
- 37) Grob Jr. K.; Grob G.; Grob K.; Journal of Chromatography A, 1981, **219(1)**, 13-20
- 38) Vezzani, S.; Moretti, P.; Castello, G.; Analytica Chimica Acta, 2007, **599(1)**, 151-161
- 39) https://sisu.ut.ee/lcms_method_validation/course-introduction - site consultado a 24-08-2016
- 40) Shabir G.; *Analytical Methods Validation*, Institute of Validation Technology, 2013, 4-11
- 41) Eurachem Method Validation Working Group; *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, Eurachem, II edição, 2014, 7, 19, 27
- 42) *Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*, Intituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, 2007, 4-7, 10, 11, 14-16, 20
- 43) Ribani, M.; Bottoli C.; Collins C.; Química Nova, 2004, **27(5)**, 771-780
- 44) <http://www.caslab.com/News/gcms-full-scan-vs-cgms-sim.html> - site consultado a 22-08-2016

- 45) Wong J.; Zhang K.; Tech K.; Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, **58**, 5868-5883
- 46) Wong J.; Zhang K.; Tech K.; Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, **58**, 5884-5896
- 47) Cardoso J.; Neto F.; Química Nova, 1986, **9**(1), 58-63
- 48) Agilent J&W GC Column Selection Guide; 2012, 10, 33, 66, 88-89

Anexos

Anexo 1 – Tempos de retenção e temperaturas de eluição para cada composto da solução de Grob em GC/MS.

Nome	RT (min)	Temperatura de eluição (°C)
C ₁₀	11,22	80,88
1-octanol	13,94	91,76
2,6-dimetil-fenol	15,27	97,08
ácido 2-etil-hexanóico	16,41	101,64
2,6-dimetil-anilina	17,26	105,04
C ₁₂	18,51	110,04
metil-decanoato	22,73	126,92
diciclo-hexilamina	25,80	139,20
metil-undecanoato	26,01	140,04
metil-dodecanoato	29,10	152,40

Anexo 2 – Tempos de retenção e temperaturas de eluição para cada hidrocarboneto em GC/MS.

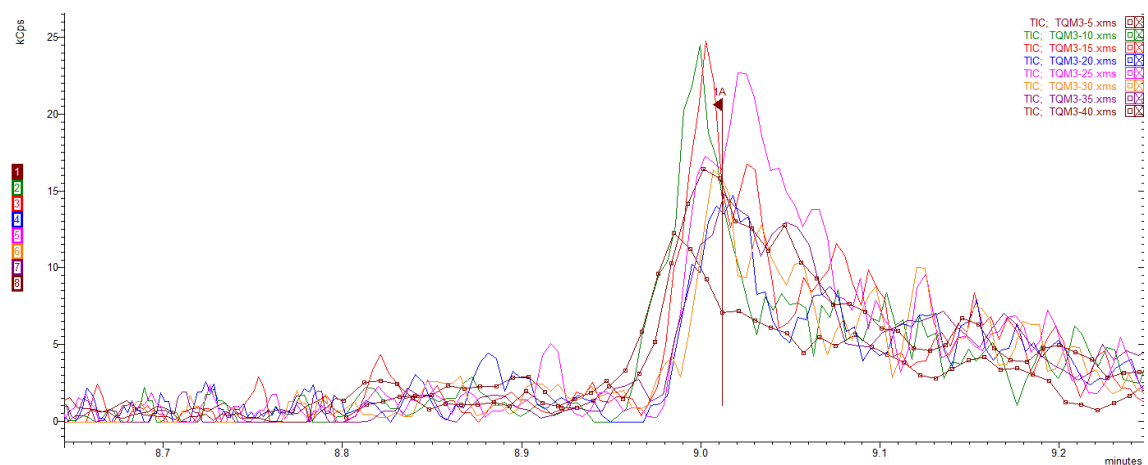
Hidrocarboneto	# de carbonos	RT (min)	<i>LRI</i>	Temperatura de eluição (°C)
Tridecano	13	6,78	1300	124,68
Tetradecano	14	8,74	1400	136,44
Pentadecano	15	10,77	1500	148,62
Hexadecano	16	12,77	1600	160,62
Heptadecano	17	14,71	1700	172,26
Octadecano	18	16,57	1800	183,42
Nonadecano	19	18,35	1900	194,10
Eicosano	20	20,05	2000	204,30
Heneicosano	21	21,67	2100	214,02
Docosano	22	23,23	2200	223,38
Tricosano	23	24,72	2300	232,32
Tetracosano	24	26,14	2400	240,84
Pentacosano	25	27,52	2500	249,12
Hexacosano	26	28,84	2600	257,04
Heptacosano	27	30,12	2700	264,72
Octacosano	28	31,34	2800	272,04
Nonacosano	29	32,53	2900	279,18
Triacotano	30	33,67	3000	286,02
Hentriacotano	31	34,78	3100	292,68
Dotriacotano	32	35,89	3200	295,00

Tritriacontano	33	37,17	3300	295,00
Tetratriacontano	34	38,71	3400	295,00
Pentatriacontano	35	40,52	3500	295,00
Hexatriacontano	36	42,75	3600	295,00

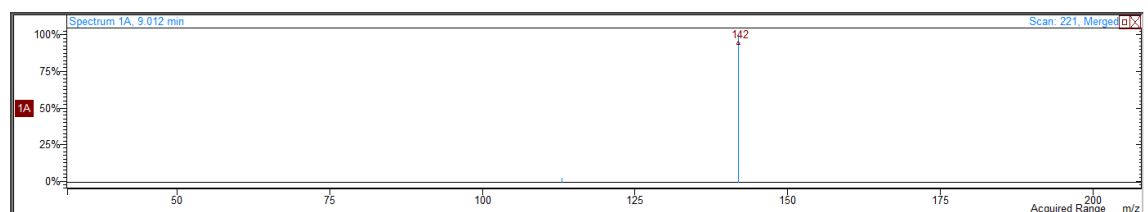
Anexo 3 – Tempos de retenção, temperaturas de eluição e *LRI*s calculados para cada HPA em GC/MS.

Nome	RT (min)	<i>LRI</i> calculado	Temperatura de eluição (°C)
Tetradecano	8,74	1400	136,44
2-metil-naftaleno	8,99	1412	137,94
1-metil-naftaleno	9,31	1428	139,86
Pentadecano	10,77	1500	148,62
Acenaftileno	12,10	1567	156,60
Acenafteno	12,75	1599	160,50
Hexadecano	12,77	1600	160,62
Fluoreno	14,71	1700	172,26
Heptadecano	14,71	1700	172,26
Nonadecano	18,35	1900	194,10
Fenantreno	18,35	1900	194,10
Antraceno	18,54	1911	195,24
Eicosano	20,05	2000	204,30
Heneicosano	21,67	2100	214,02
Fluoranteno	22,97	2183	221,82
Docosano	23,23	2200	223,38
Pireno	23,77	2236	226,62
Tricosano	24,72	2300	232,32
Pentacosano	27,52	2500	249,12
Benzo(a)antraceno	28,54	2577	255,24
Criseno	28,67	2587	256,02
Hexacosano	28,84	2600	257,04
Octacosano	31,34	2800	272,04
Benzo(b)fluoranteno	32,46	2894	278,76
Benzo(k)fluoranteno	32,52	2899	279,12
Nonacosano	32,53	2900	279,18
Benzo(a)pireno	33,51	2986	285,06
Triacontano	33,67	3000	286,02
Tritriacontano	37,17	3300	>295,00
Indeno(1,2,3-cd)pireno	37,18	3301	>295,00
Dibenzo(a,h)antraceno	37,36	3312	>295,00
Benzo(g,h,i)perileno	38,14	3363	>295,00
Tetratriacontano	38,71	3400	>295,00

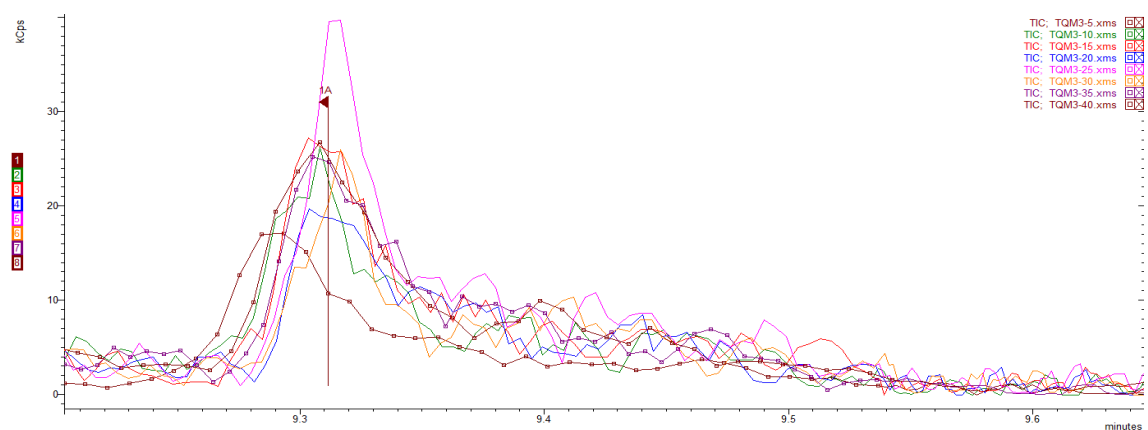
Anexo 4a – Fragmentação do 2-metil-naftaleno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



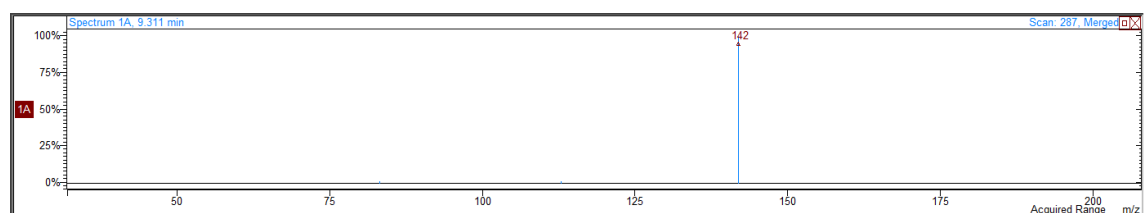
Anexo 4b – Espectro de massa do íon precursor do 2-metil-naftaleno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



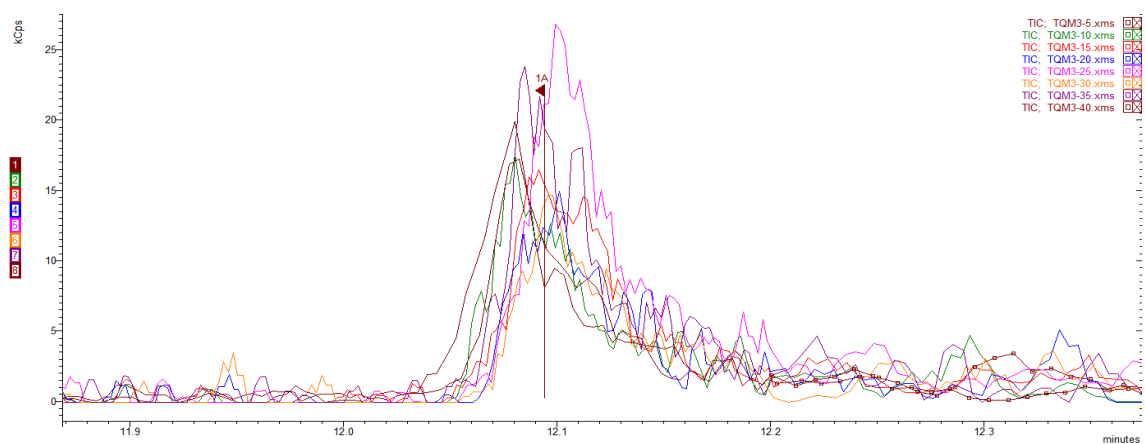
Anexo 5a – Fragmentação do 1-metil-naftaleno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



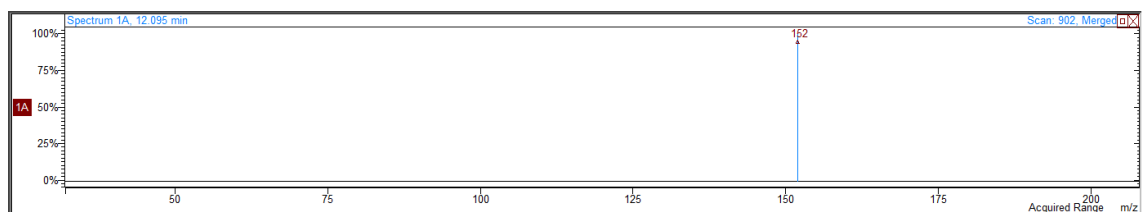
Anexo 5b – Espectro de massa do íon precursor do 1-metil-naftaleno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



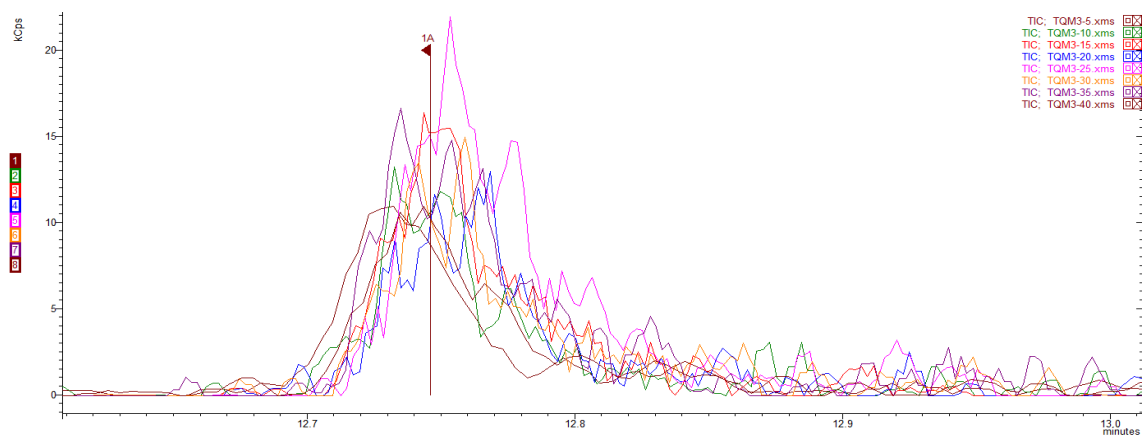
Anexo 6a – Fragmentação do acenaftileno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



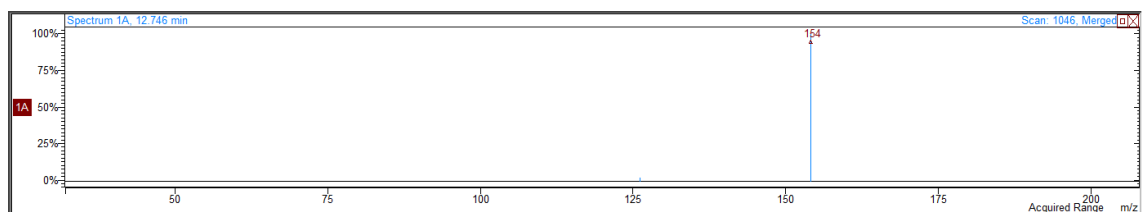
Anexo 6b – Espectro de massa do íon precursor do acenaftileno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



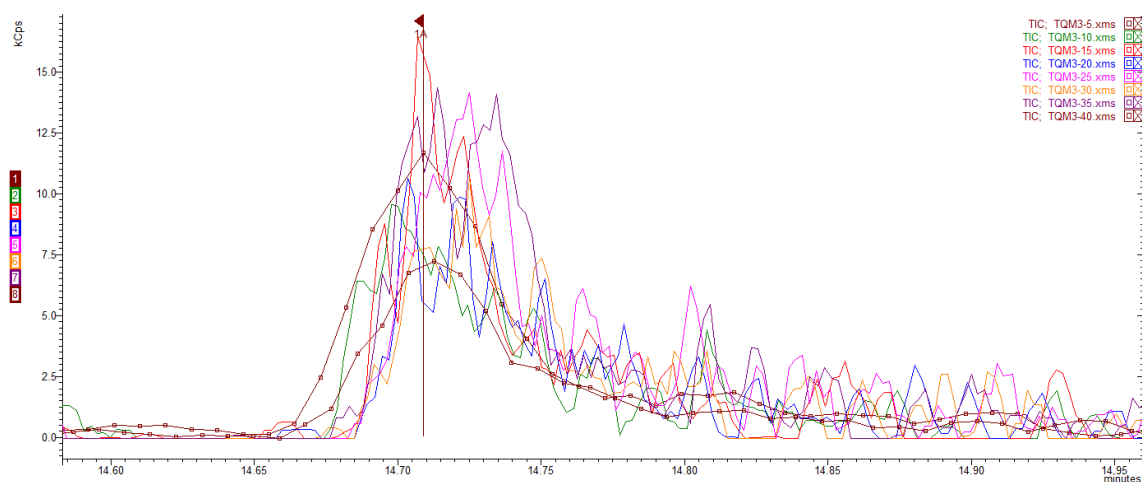
Anexo 7a – Fragmentação do acenafteno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



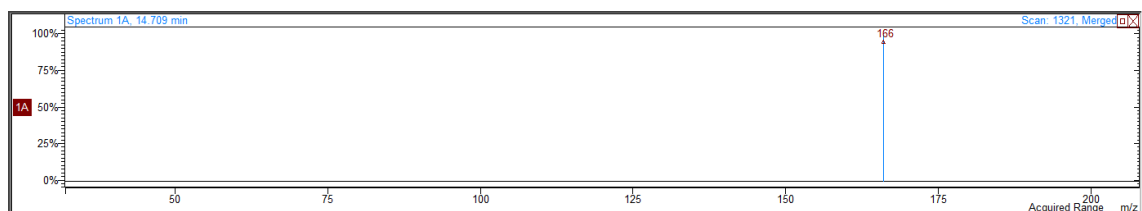
Anexo 7b – Espectro de massa do íon precursor do acenafteno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



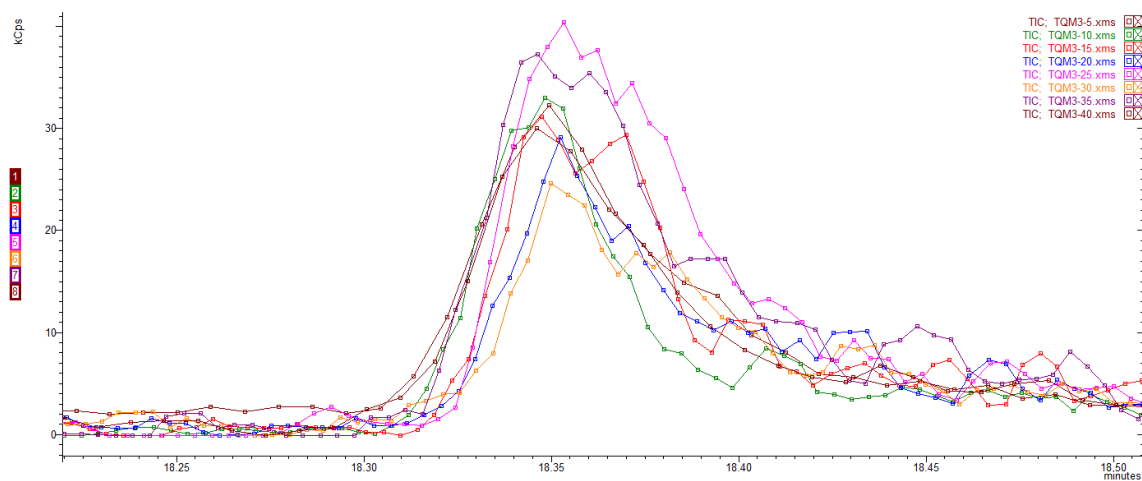
Anexo 8a – Fragmentação do fluoreno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



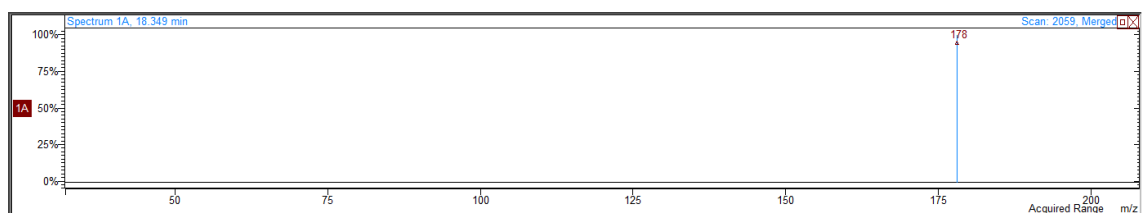
Anexo 8b – Espectro de massa do ião precursor do fluoreno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



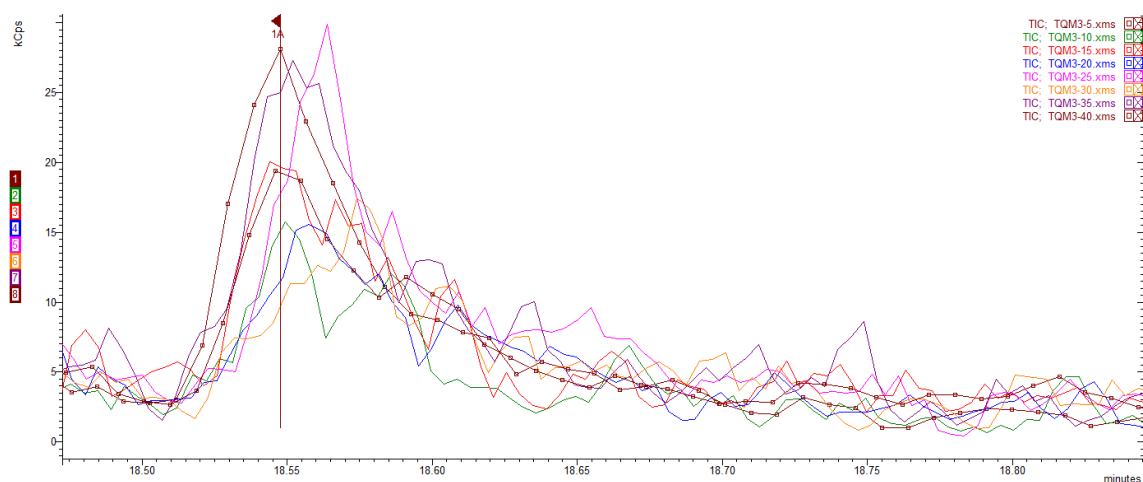
Anexo 9a – Fragmentação do fenantreno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



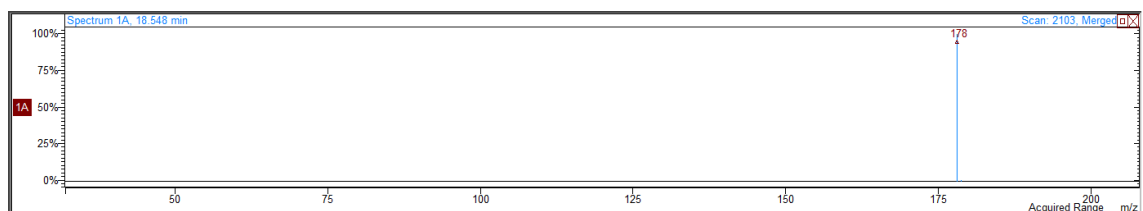
Anexo 9b – Espectro de massa do ião precursor do fenantreno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



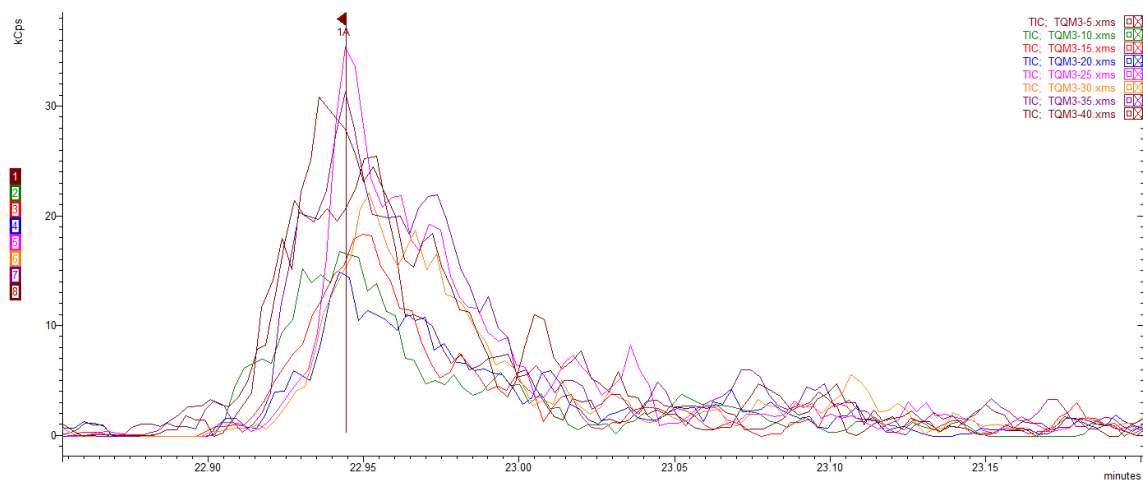
Anexo 10a – Fragmentação do antraceno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



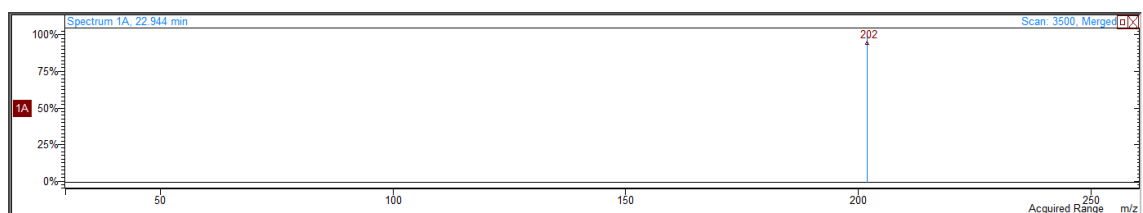
Anexo 10b – Espectro de massa do ião precursor do antraceno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



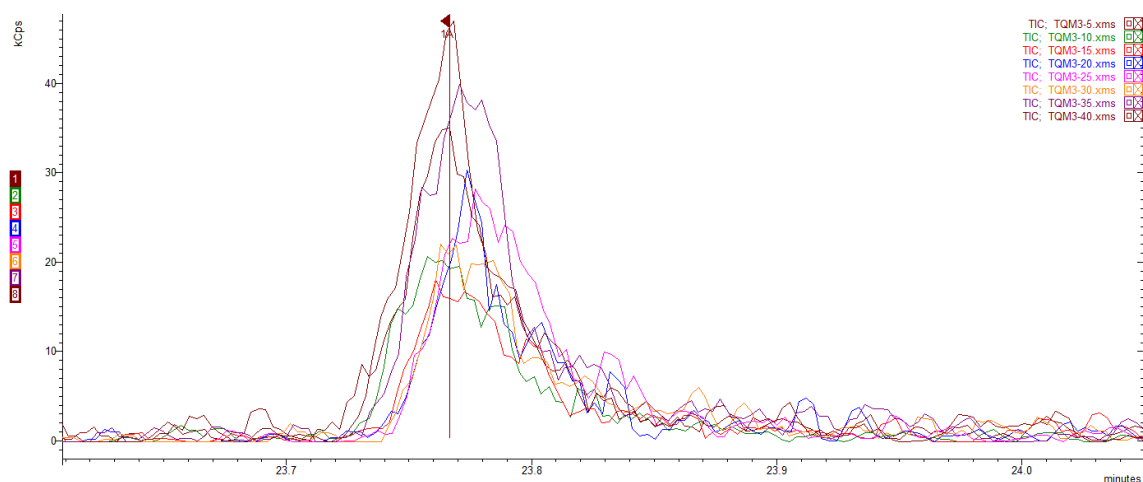
Anexo 11a – Fragmentação do fluoranteno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



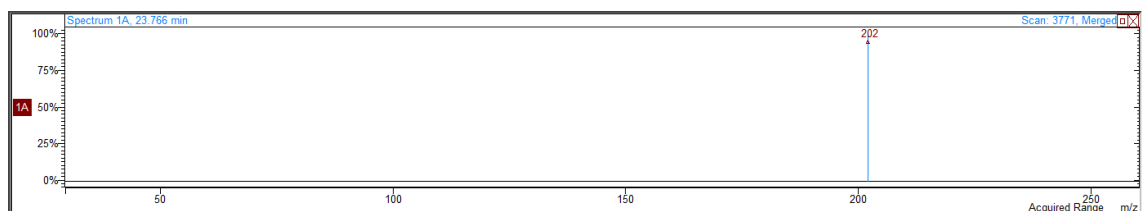
Anexo 11b – Espectro de massa do ião precursor do fluoranteno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



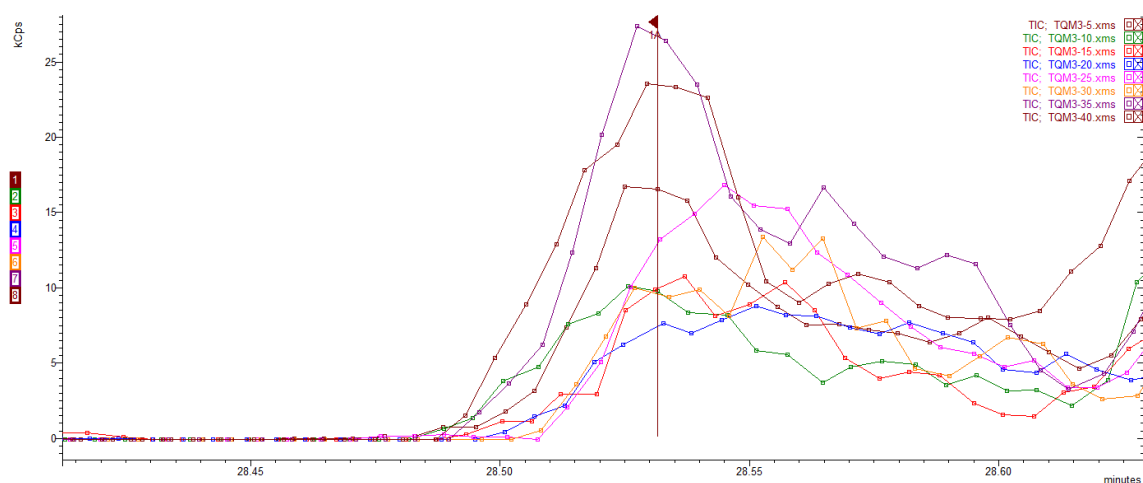
Anexo 12a – Fragmentação do pireno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



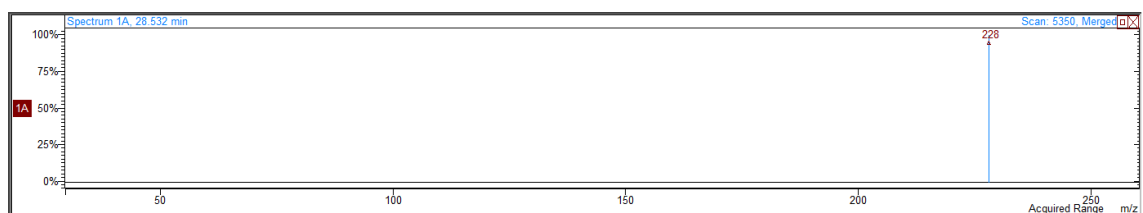
Anexo 12b – Espectro de massa do íon precursor do pireno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



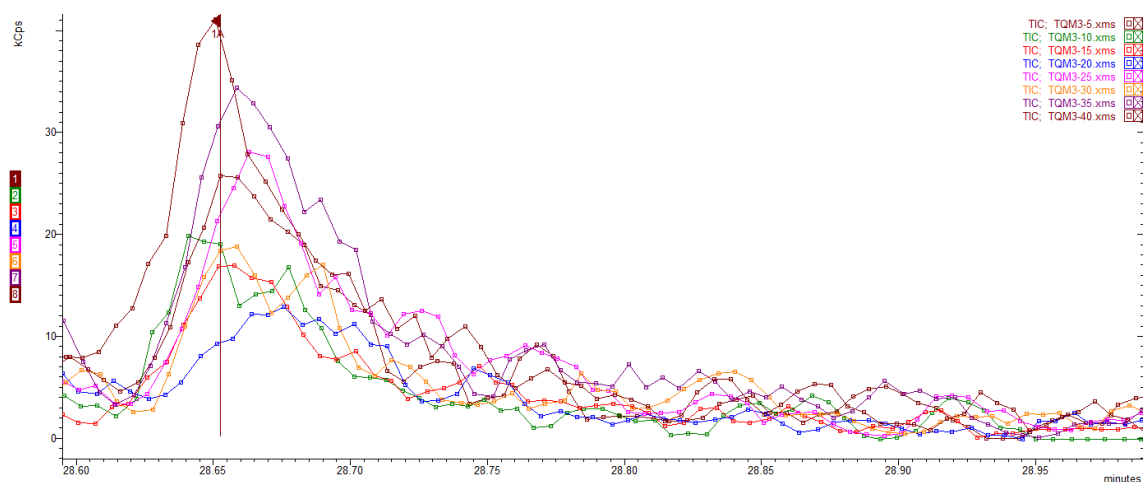
Anexo 13a – Fragmentação do benzo(a)antraceno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



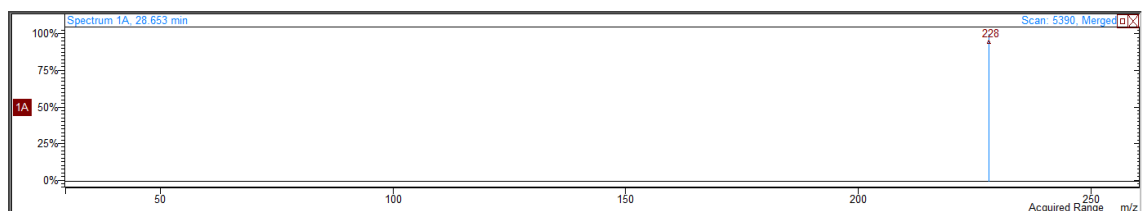
Anexo 13b – Espectro de massa do íon precursor do benzo(a)antraceno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



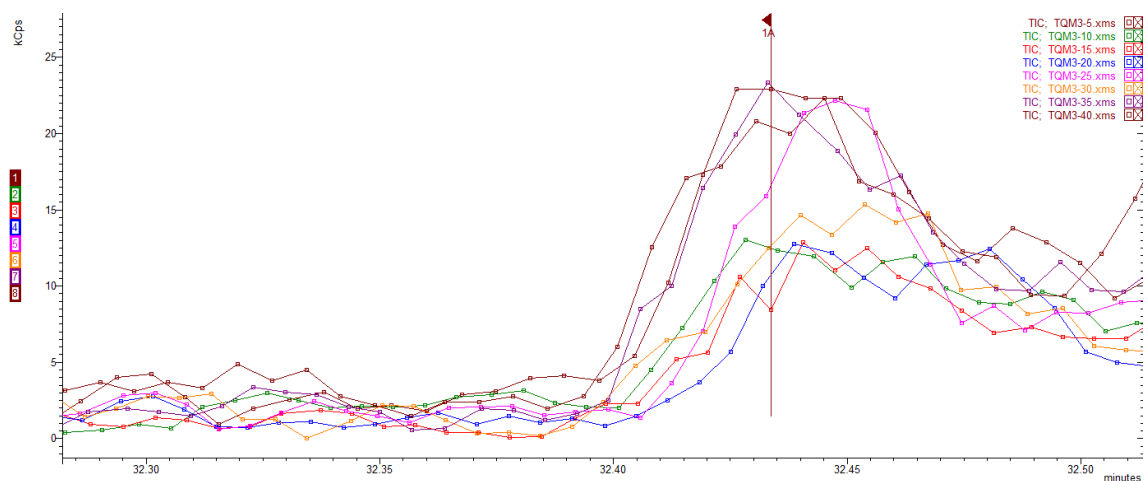
Anexo 14a – Fragmentação do criseno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



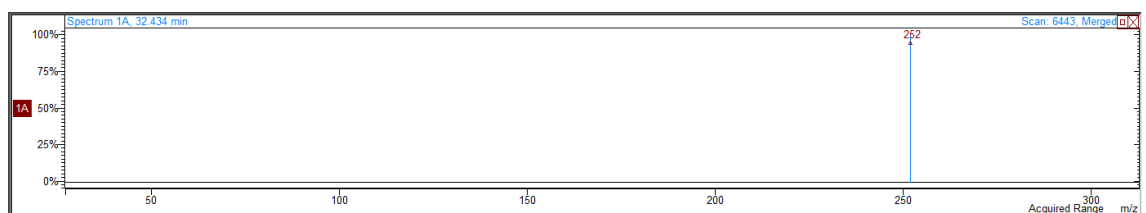
Anexo 14b – Espectro de massa do ião precursor do criseno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



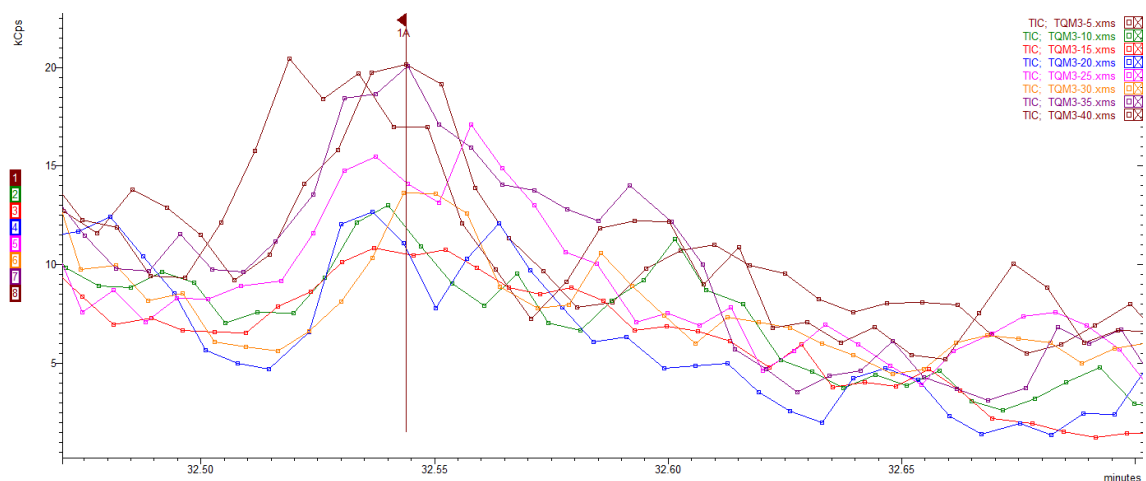
Anexo 15a – Fragmentação do benzo(b)fluoranteno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



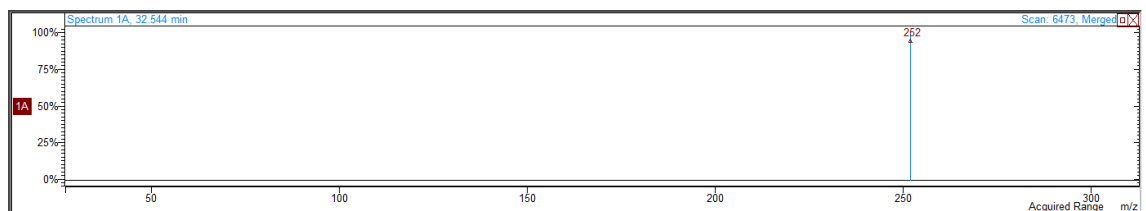
Anexo 15b – Espectro de massa do ião precursor do benzo(b)fluoranteno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



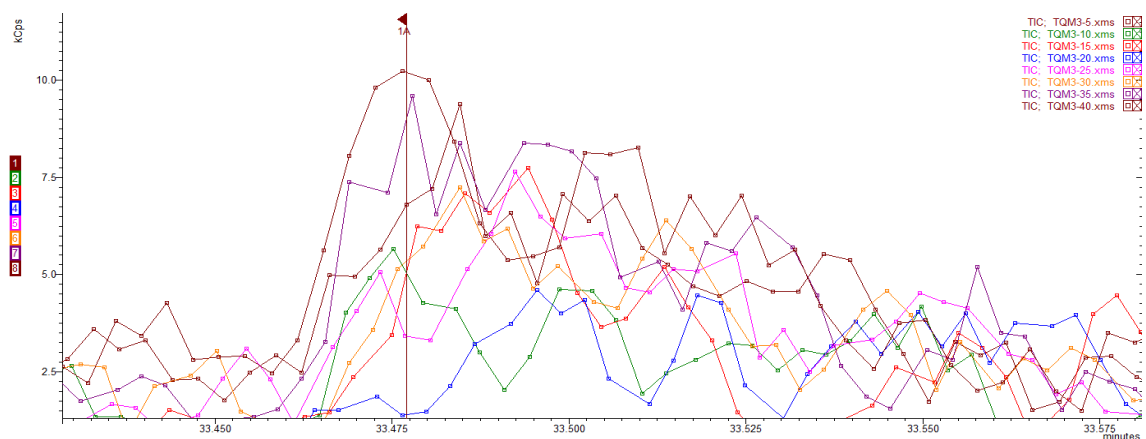
Anexo 16a – Fragmentação do benzo(k)fluoranteno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



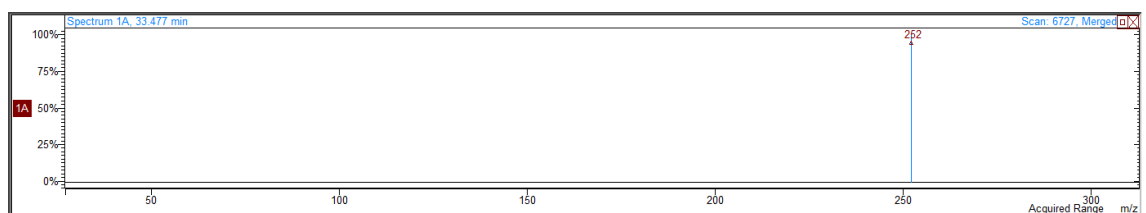
Anexo 16b – Espectro de massa do ião precursor do benzo(k)fluoranteno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



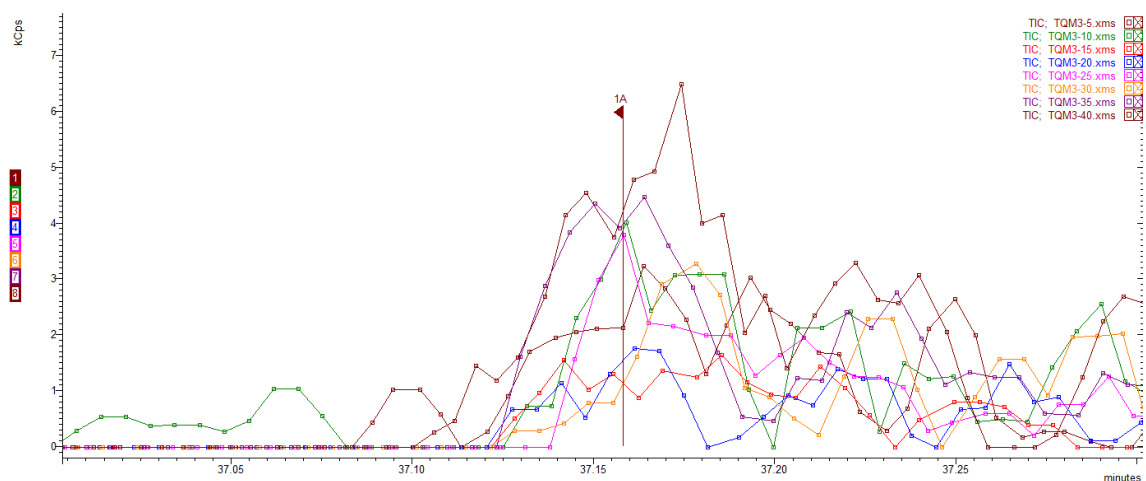
Anexo 17a – Fragmentação do benzo(a)pireno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



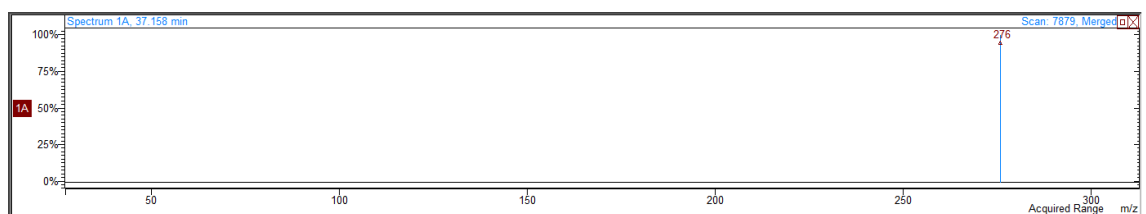
Anexo 17b – Espectro de massa do ião precursor do benzo(a)pireno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



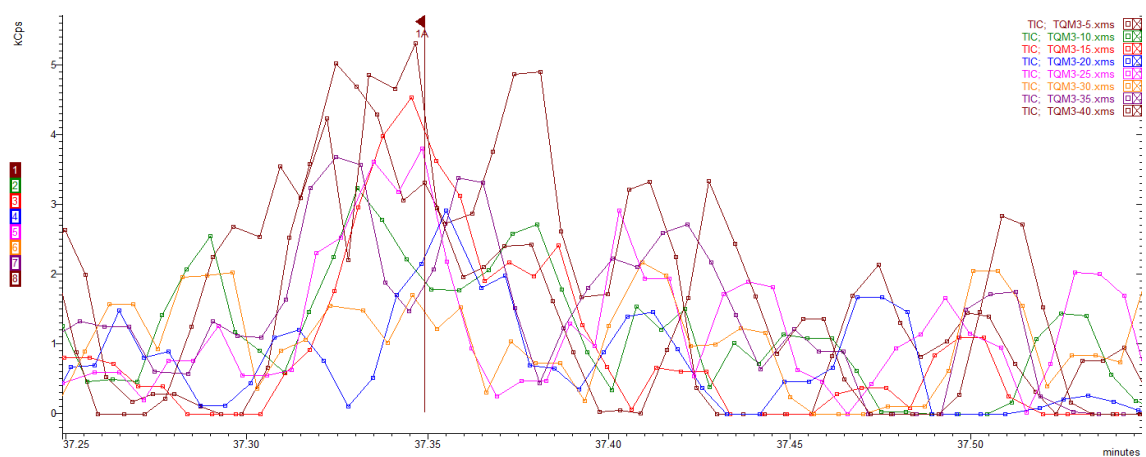
Anexo 18a – Fragmentação do indeno(1,2,3-cd)pireno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



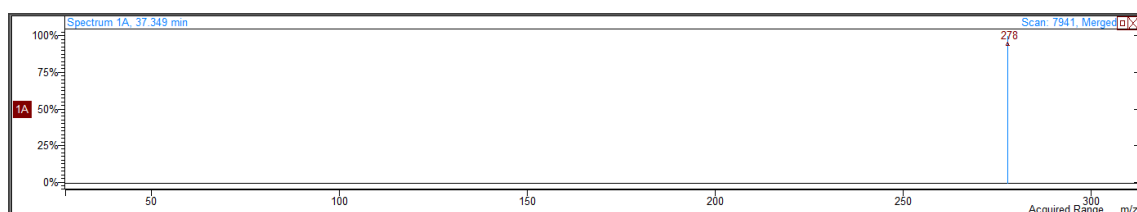
Anexo 18b – Espectro de massa do ião precursor do indeno(1,2,3-cd)pireno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



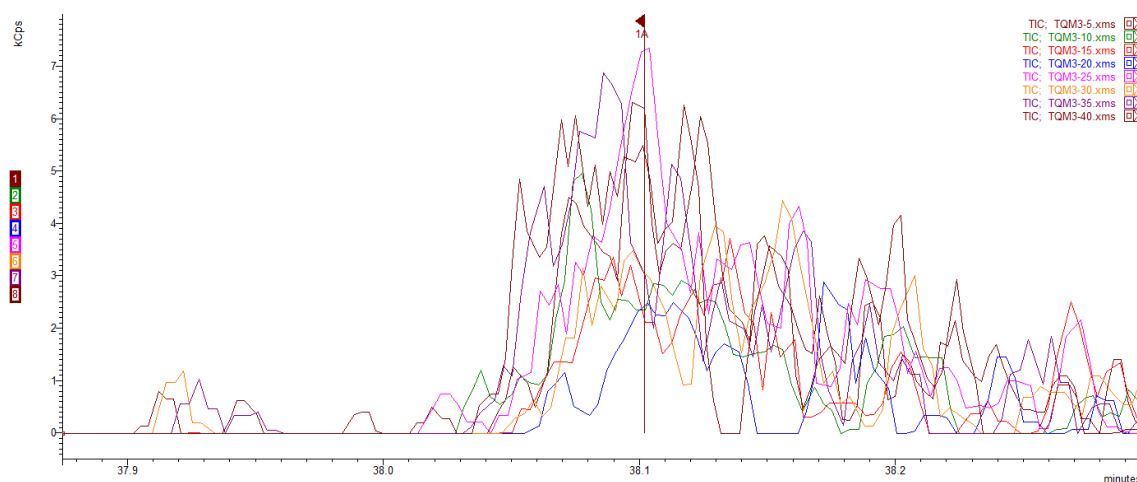
Anexo 19a – Fragmentação do dibenzo(a,h)antraceno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



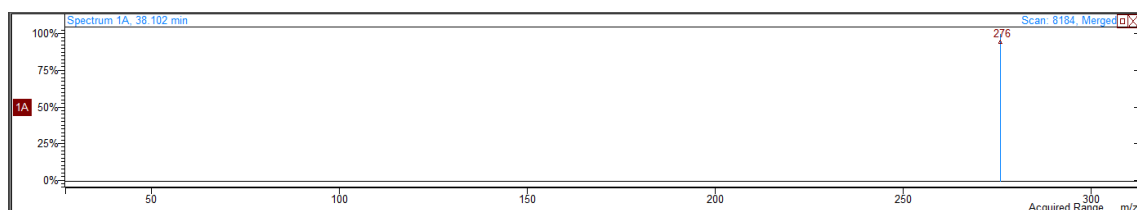
Anexo 19b – Espectro de massa do ião precursor do dibenzo(a,h)antraceno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



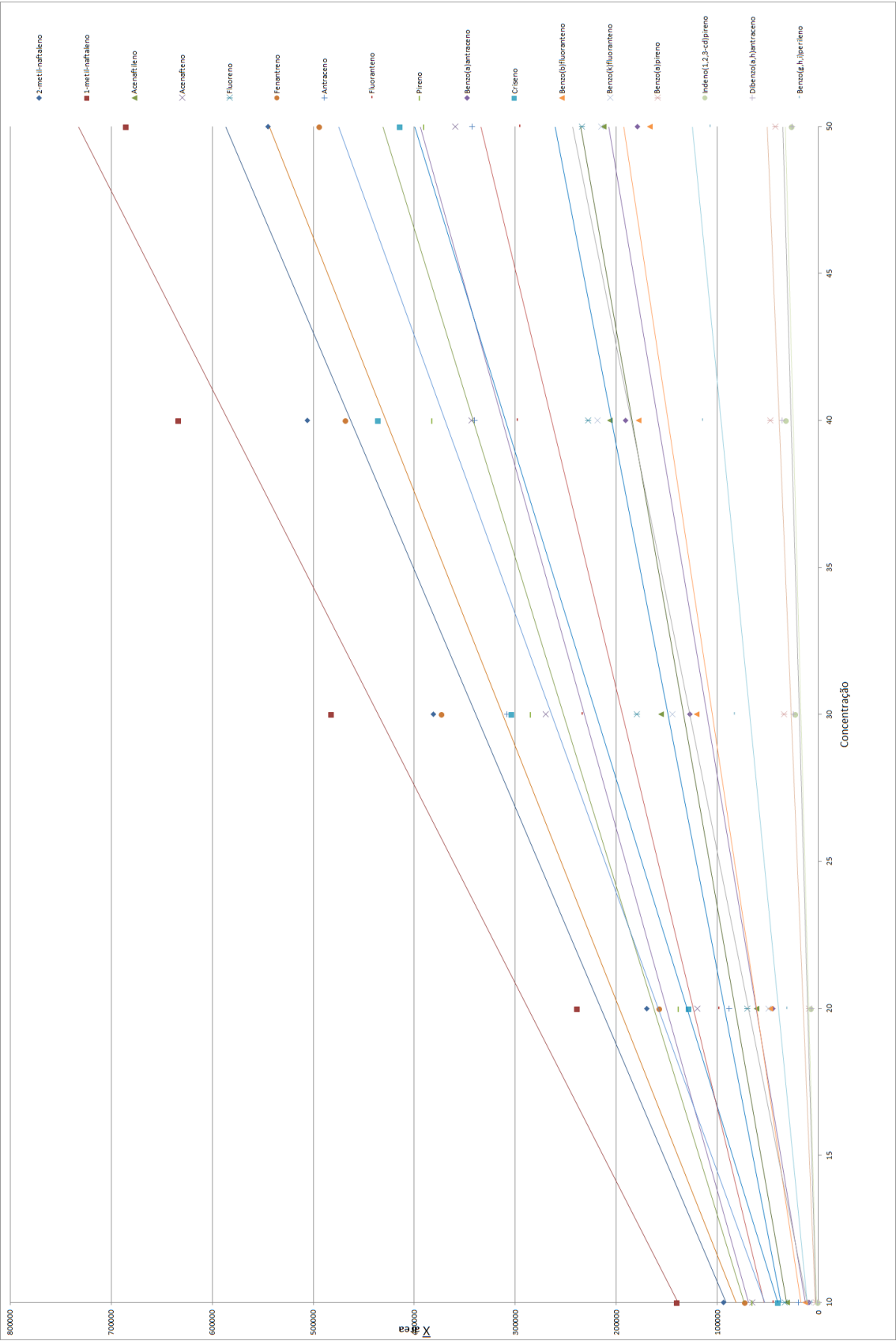
Anexo 20a – Fragmentação do benzo(g,h,i)perileno no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



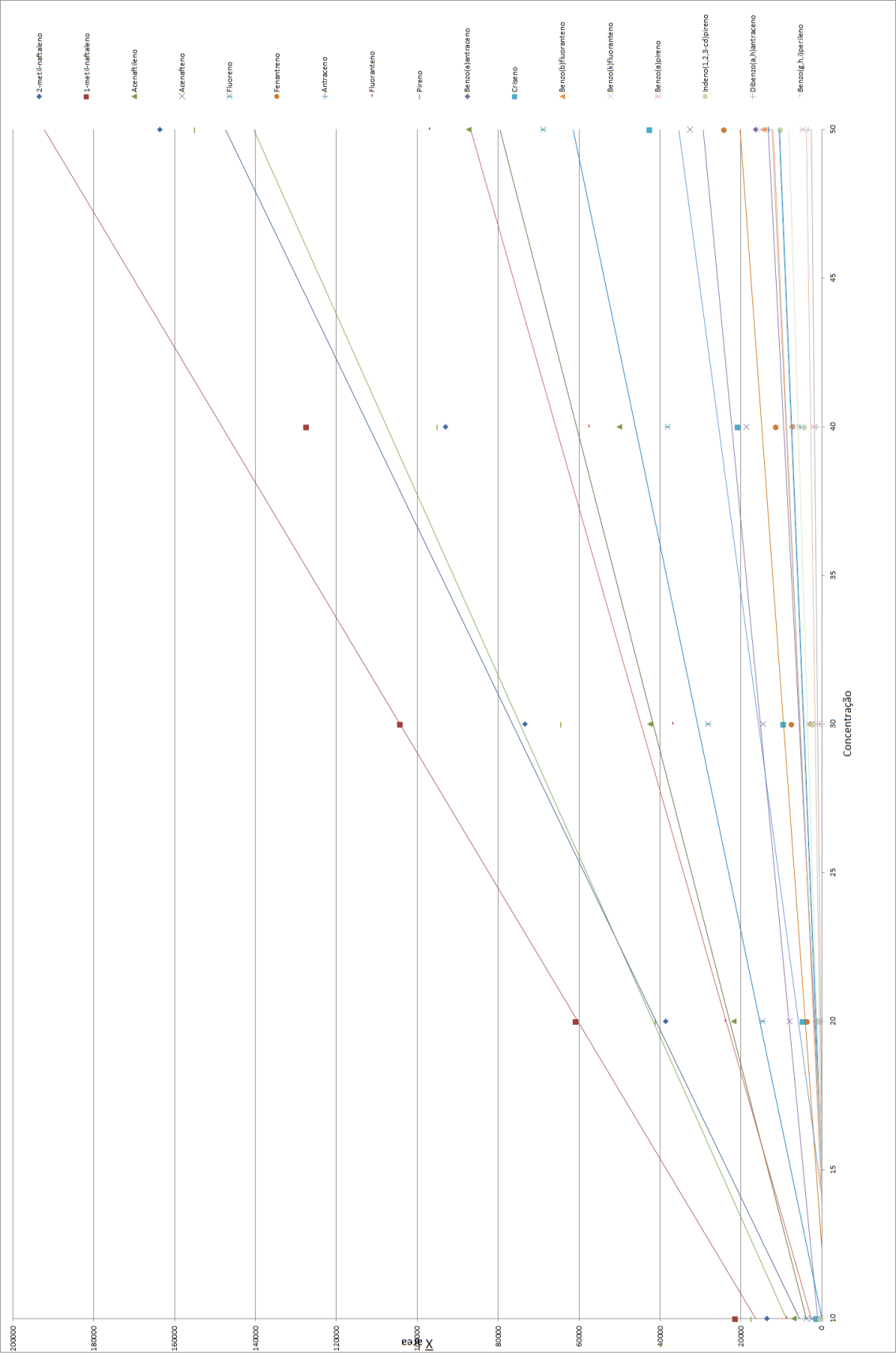
Anexo 20b – Espectro de massa do ião precursor do benzo(g,h,i)perileno, obtido após fragmentação no método *SRM*, para energias de colisão entre os 5 e os 40 eV.



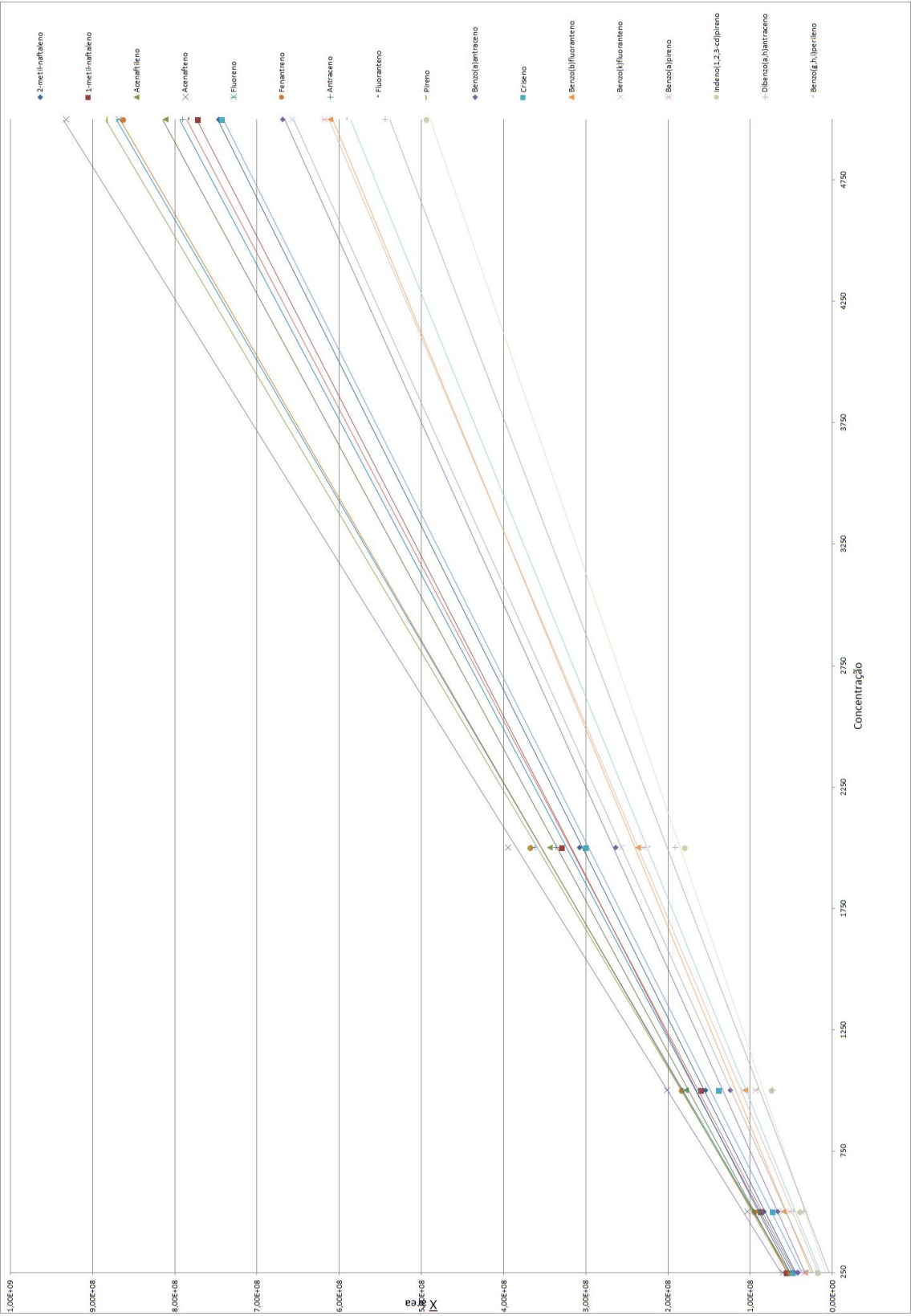
Anexo 21 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 1, no modo *SIM*.



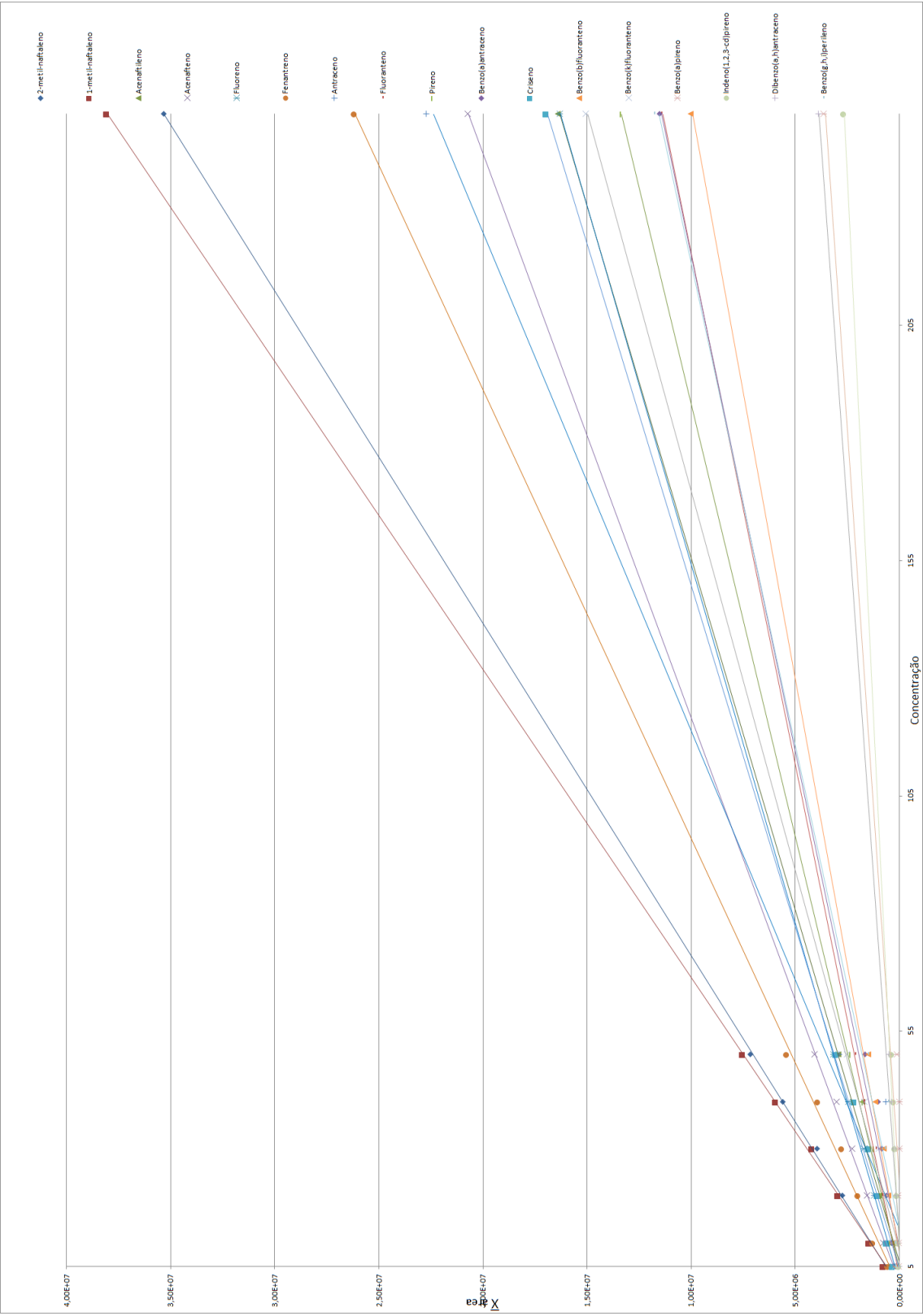
Anexo 22 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 1, no modo *SRM*.



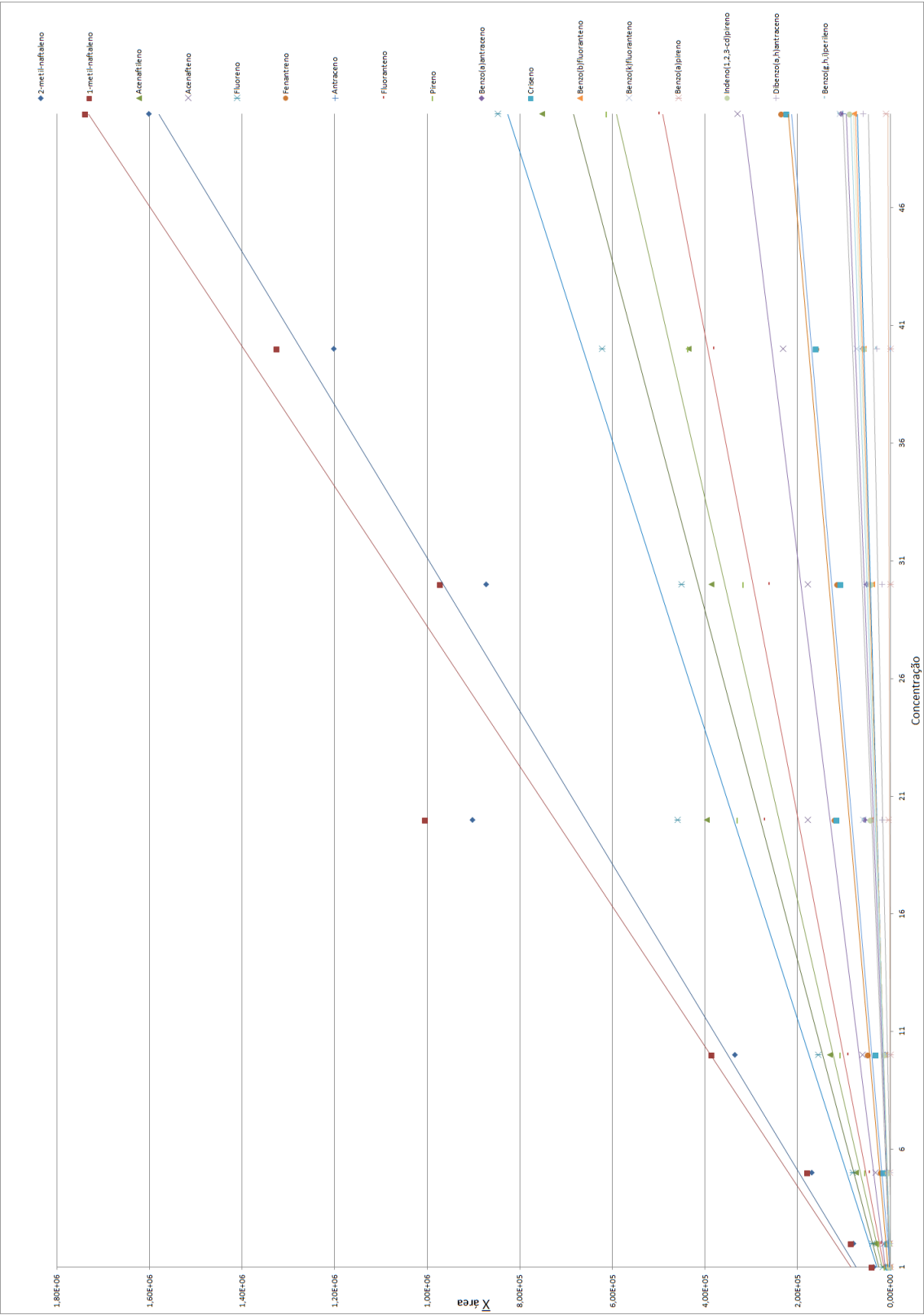
Anexo 23 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 2, no modo *Full-Scan*.



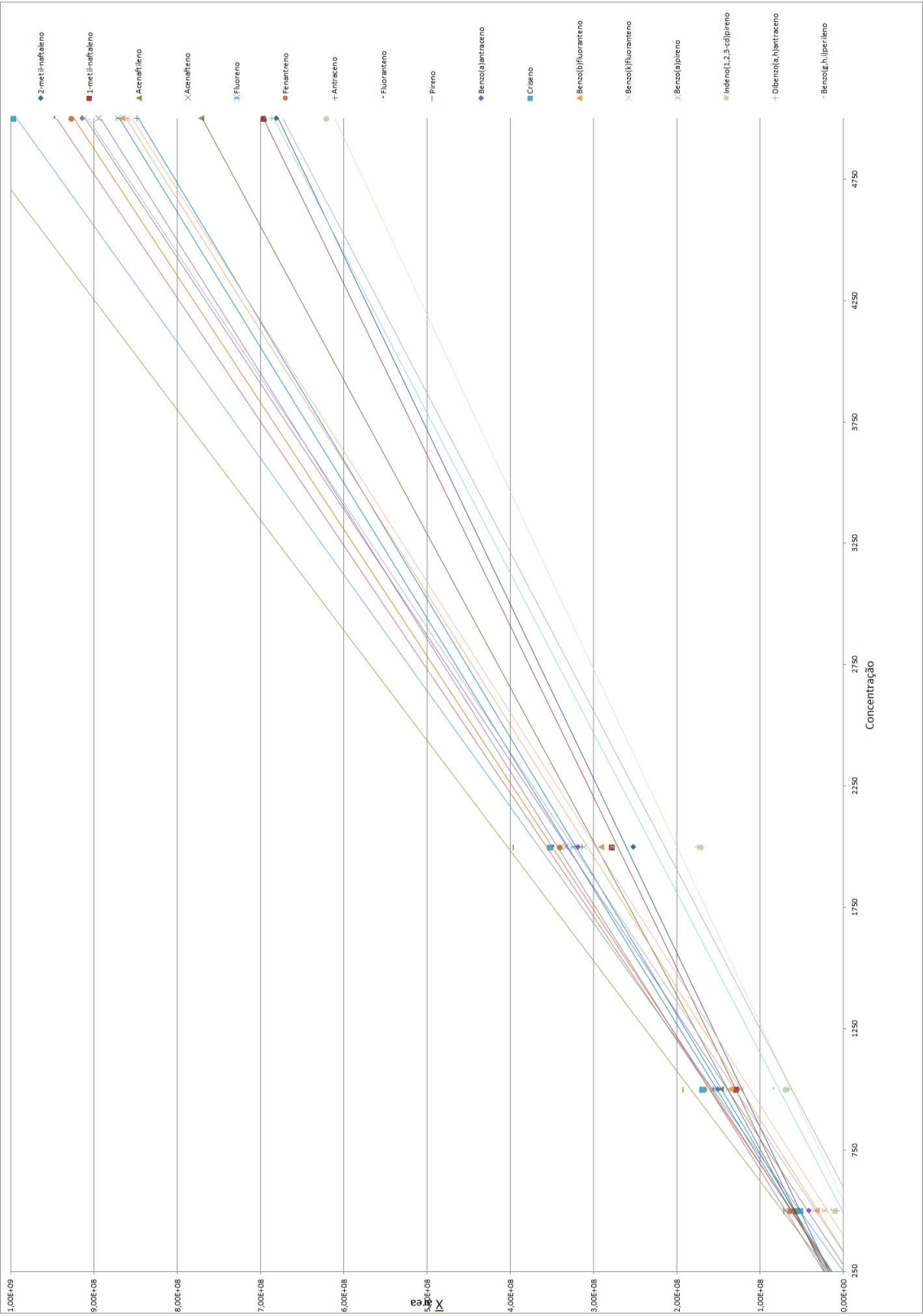
Anexo 24 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 2, no modo *SIM*.



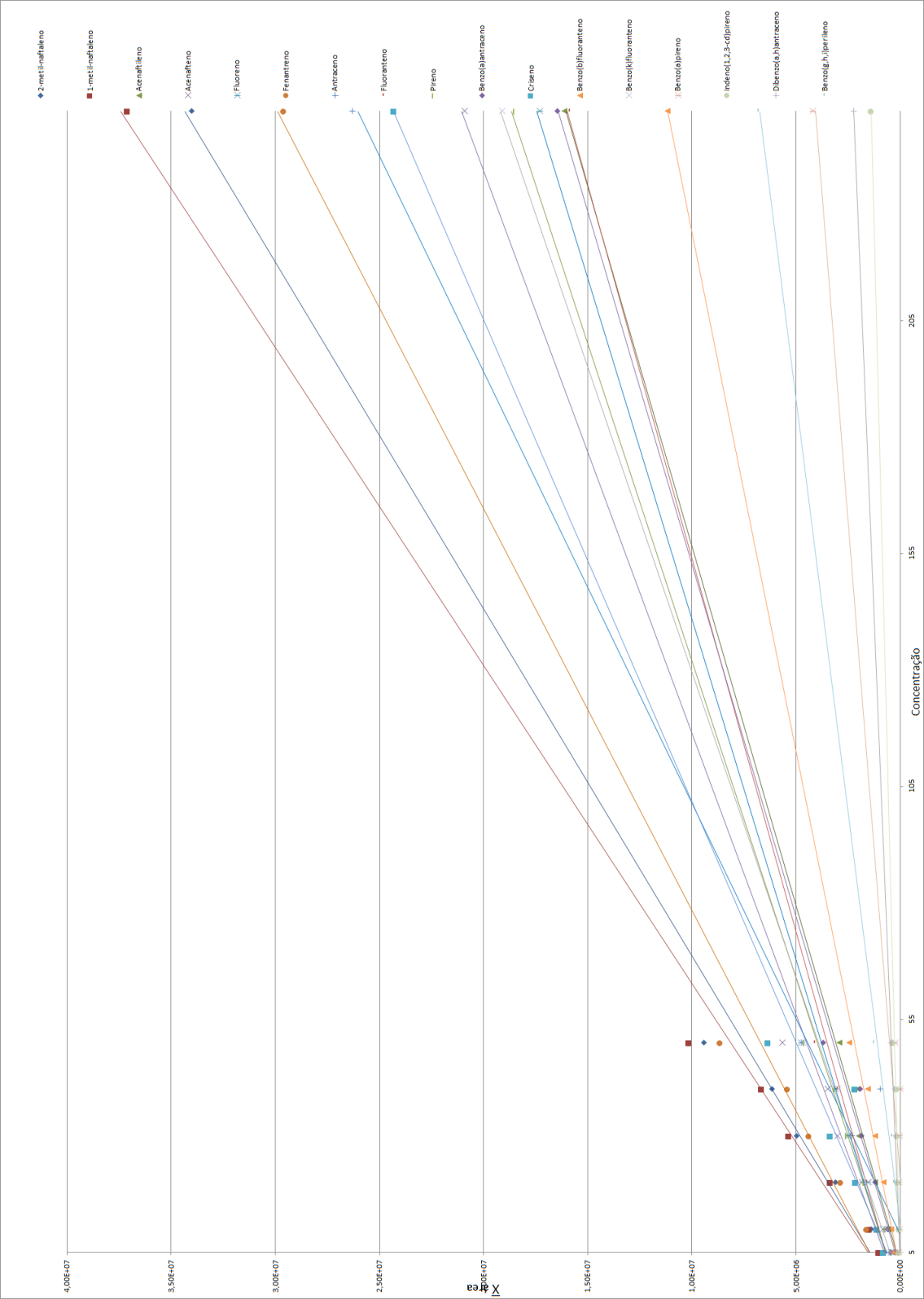
Anexo 25 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 2, no modo *SRM*.



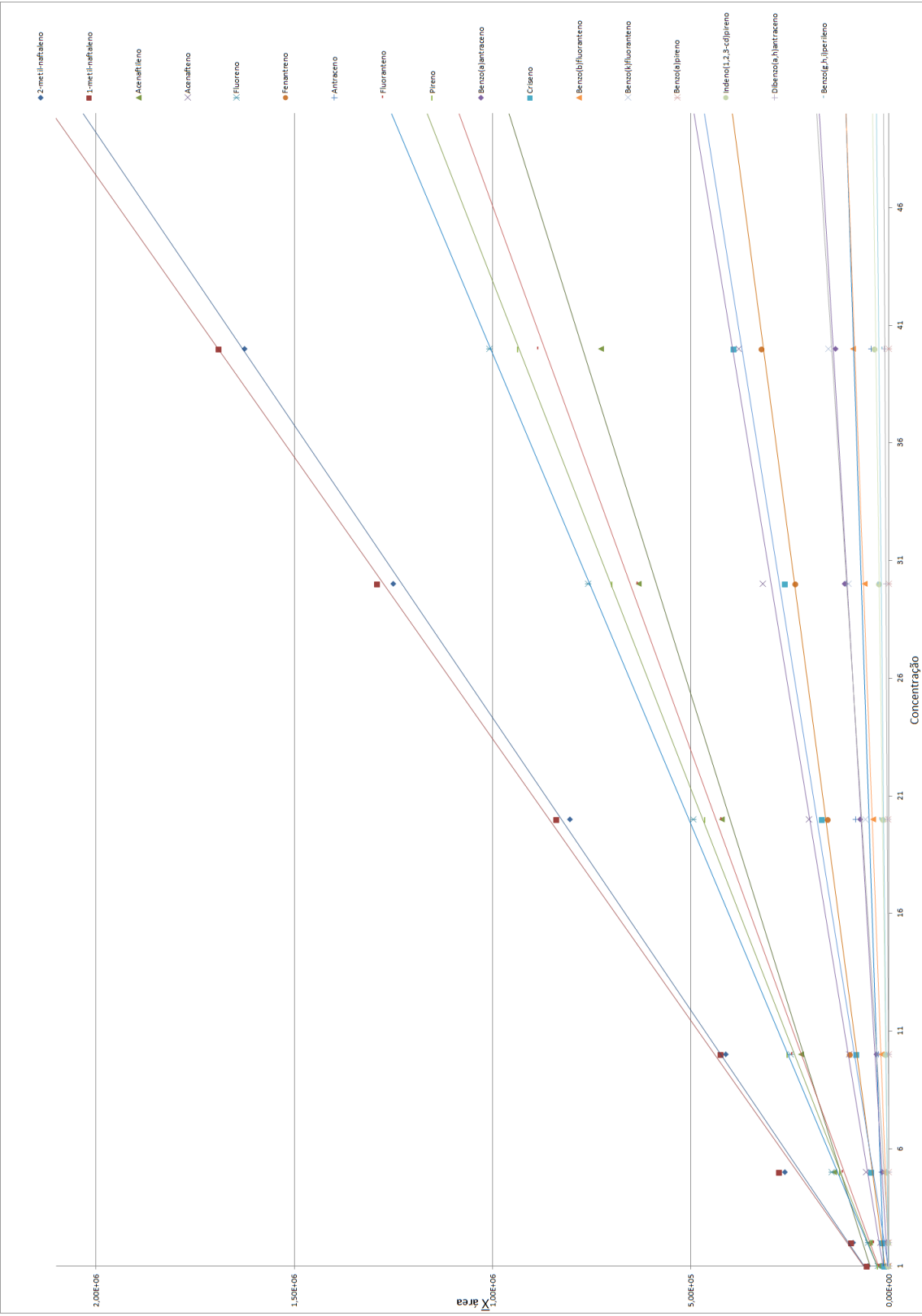
Anexo 26 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 3, no modo *Full-Scan*.



Anexo 27 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 3, no modo *SIM*.



Anexo 28 – Representação gráfica da área em função da concentração para cada HPA, para o Sistema 3, no modo *SRM*.



Anexo 29 – Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *Full-Scan*, para os sistemas 2 e 3, para N'= 3.

HPA	<i>RSD</i> (%) (0.25 ppm)		<i>RSD</i> (%) (0.5 ppm)		<i>RSD</i> (%) (1 ppm)		<i>RSD</i> (%) (2 ppm)		<i>RSD</i> (%) (5 ppm)		\bar{X} <i>RSD</i> (%)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1'	4,36	N.D.	6,07	3,62	5,95	2,36	0,38	0,56	2,75	1,53	3,90	2,02
2'	5,16	N.D.	1,01	7,57	4,02	3,13	0,91	1,02	2,16	1,01	2,65	3,18
3'	18,45	N.D.	4,56	4,09	2,38	2,97	0,67	0,73	1,97	0,22	5,61	2,00
4'	7,42	N.D.	3,91	3,61	3,52	0,91	1,80	0,21	2,58	1,15	3,85	1,47
5'	19,49	N.D.	7,76	6,56	3,55	1,28	2,34	0,65	2,17	1,24	7,06	2,43
6'	2,66	N.D.	1,54	4,07	3,49	0,92	0,69	1,66	2,10	0,97	2,09	1,91
7'	1,53	N.D.	3,18	5,19	3,06	1,95	2,08	0,45	2,85	0,61	2,54	2,05
8'	1,38	N.D.	0,74	2,27	2,69	0,90	1,14	0,81	3,08	0,43	1,81	1,10
9'	2,68	N.D.	1,27	1,87	3,51	1,56	1,18	0,36	3,22	1,08	2,37	1,22
10'	1,01	N.D.	3,75	1,91	2,84	1,75	1,33	1,33	3,54	0,39	2,50	1,35
11'	9,01	N.D.	2,45	4,15	3,60	3,27	1,02	0,20	3,44	0,40	3,90	2,01
12'	2,96	N.D.	2,91	13,35	4,00	1,96	1,29	1,46	3,45	0,37	2,92	4,29
13'	5,04	N.D.	9,47	16,72	5,19	2,74	1,62	4,53	3,25	0,49	4,92	6,12
14'	29,70	N.D.	9,87	3,94	0,98	1,68	2,66	3,57	3,34	0,94	9,31	2,53
15'	19,59	N.D.	6,47	22,27	5,97	10,60	2,56	1,24	3,28	1,13	7,58	8,81
16'	2,79	N.D.	4,03	40,12	4,27	14,14	6,53	4,85	0,37	0,47	3,60	14,90
17'	4,00	N.D.	9,05	15,81	7,24	4,48	4,97	1,42	0,90	2,38	5,23	6,02

Anexo 30a – Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *SIM*, para os sistemas 2 e 3, para N'= 3.

HPA	<i>RSD</i> (%) (5 ppm)		<i>RSD</i> (%) (10 ppm)		<i>RSD</i> (%) (20 ppm)		<i>RSD</i> (%) (30 ppm)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
1'	3,45	1,50	2,19	0,72	1,64	0,23	9,11	0,14
2'	2,13	33,68	1,79	0,78	1,55	0,63	8,28	0,26
3'	3,68	2,58	2,59	0,74	1,14	0,58	8,74	0,00
4'	4,13	2,32	1,50	0,35	1,91	1,16	7,41	0,71
5'	3,57	1,24	2,01	0,92	0,83	0,00	7,71	0,28
6'	2,01	4,63	0,45	3,05	0,77	3,70	7,76	2,10
7'	2,97	2,91	0,16	5,75	6,80	1,98	17,31	1,51
8'	9,06	6,63	3,51	5,15	1,76	20,20	3,64	10,92
9'	6,30	9,96	4,19	1,99	1,80	14,74	3,89	9,18
10'	18,35	10,61	0,79	4,07	2,81	0,59	4,53	1,13
11'	18,89	8,70	2,57	3,73	4,20	0,66	4,46	1,26
12'	23,01	11,53	1,89	3,86	2,28	2,43	1,68	3,51
13'	29,82	15,42	5,03	6,38	3,64	1,90	11,65	0,88
14'	31,34	23,45	131,14	11,57	6,38	5,56	6,79	23,33
15'	10,46	5,54	3,70	29,17	4,02	5,65	13,40	0,80
16'	6,33	8,12	1,70	48,28	1,41	2,51	15,34	9,16
17'	16,68	17,74	7,50	16,19	9,24	4,03	8,18	2,83

Anexo 30b – Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *SIM*, para os sistemas 2 e 3, para N'= 3.

HPA	<i>RSD</i> (%) (40 ppm)		<i>RSD</i> (%) (50 ppm)		<i>RSD</i> (%) (250 ppm)		\bar{X} <i>RSD</i> (%)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
1'	3,35	0,80	2,45	0,55	2,61	9,98	3,70	0,66
2'	3,14	1,28	2,76	0,57	5,12	9,91	3,28	6,20
3'	3,15	2,42	4,81	1,42	2,44	11,42	4,02	1,29
4'	2,11	0,20	2,62	0,77	2,17	10,83	3,28	0,92
5'	1,53	0,91	1,99	0,68	1,06	12,26	2,94	0,67
6'	0,15	1,18	2,23	0,44	3,29	10,99	2,23	2,52
7'	1,20	4,74	2,27	1,06	4,18	10,75	5,12	2,99
8'	0,92	6,58	1,66	1,76	7,02	8,48	3,42	8,54
9'	1,41	7,40	2,80	1,21	7,46	7,24	3,40	7,41
10'	2,21	1,48	4,13	1,35	10,91	20,20	5,47	3,21
11'	5,47	5,51	3,66	1,61	10,74	14,55	6,54	3,58
12'	1,82	5,03	3,66	0,47	9,69	23,39	5,72	4,47
13'	5,88	2,86	5,37	2,55	8,96	25,17	10,23	5,00
14'	22,26	4,41	3,06	4,58	11,28	29,77	33,49	12,15
15'	1,39	3,82	3,42	2,88	9,05	38,66	6,07	7,98
16'	3,32	5,65	3,25	4,15	8,52	45,46	5,23	12,98
17'	7,36	6,27	4,87	3,60	8,19	35,36	8,97	8,44

Anexo 31a – Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *SRM*, para os sistemas 2 e 3, para N'= 3.

HPA	<i>RSD</i> (%) (1 ppm)		<i>RSD</i> (%) (2 ppm)		<i>RSD</i> (%) (5ppm)		<i>RSD</i> (%) (10 ppm)		<i>RSD</i> (%) (20 ppm)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1'	1,59	2,11	1,65	1,50	5,08	12,06	9,04	2,22	2,34	1,18
2'	2,69	1,57	1,15	2,13	5,26	11,40	3,96	1,80	2,82	1,57
3'	1,96	5,17	8,18	1,79	2,46	3,48	1,15	1,02	0,97	2,81
4'	3,98	2,65	1,46	2,56	7,18	0,96	1,66	1,03	0,48	0,59
5'	5,16	3,46	7,63	2,40	5,71	2,49	3,13	1,12	1,48	0,18
6'	13,94	5,87	9,29	3,99	3,05	1,04	1,49	0,52	0,83	1,30
7'	20,65	3,53	11,31	18,83	3,35	5,38	4,13	0,59	2,24	1,99
8'	9,06	10,14	4,11	4,73	3,46	2,57	0,64	14,60	2,50	4,38
9'	11,17	12,63	3,10	0,92	3,75	2,21	0,34	8,20	2,79	3,47
10'	18,75	11,60	11,19	2,29	2,11	2,77	4,72	8,24	1,00	2,03
11'	11,18	8,08	12,80	3,92	7,27	3,05	6,98	0,40	0,46	2,93
12'	33,60	9,14	19,45	5,75	4,99	3,21	3,44	9,68	2,40	0,54
13'	30,66	15,24	42,53	22,19	10,05	7,11	18,81	10,50	1,17	4,46
14'	40,18	14,23	34,10	63,73	55,34	15,94	N.D.	N.D.	6,72	0,40
15'	21,89	19,48	14,69	17,38	7,45	9,29	3,70	17,75	0,46	2,11
16'	24,42	11,87	12,48	20,63	5,68	60,53	10,09	36,69	11,45	30,82
17'	34,75	21,53	11,33	17,53	6,90	31,56	12,05	9,32	1,39	11,77

Anexo 31b – Valores dos *RSD* (%) da média das áreas obtidos no método *SRM*, para os sistemas 2 e 3, para N'= 3.

HPA	<i>RSD</i> (%) (30 ppm)		<i>RSD</i> (%) (40 ppm)		<i>RSD</i> (%) (50 ppm)		\bar{X} <i>RSD</i> (%)	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
1'	3,89	0,00	1,70	0,44	1,31	11,98	3,16	2,78
2'	4,29	1,10	1,60	0,00	0,89	11,79	2,72	2,80
3'	5,67	2,05	3,70	0,08	1,09	13,87	3,01	2,34
4'	3,58	2,39	3,20	0,63	0,95	15,59	2,69	1,54
5'	4,38	0,76	2,77	1,62	2,13	11,39	3,78	1,72
6'	1,97	1,31	2,07	2,49	3,30	14,77	4,08	2,36
7'	1,49	0,86	6,16	4,56	2,52	18,25	6,17	5,11
8'	3,53	3,50	4,26	4,61	6,15	14,87	3,45	6,36
9'	5,40	1,45	2,91	4,91	7,16	13,3	3,68	4,83
10'	2,93	0,51	6,02	3,51	7,57	14,92	5,84	4,42
11'	4,46	3,18	5,74	2,80	7,82	9,11	6,11	3,48
12'	3,24	0,38	3,90	0,81	5,67	17,4	8,88	4,22
13'	8,45	6,11	8,72	3,75	6,90	15,46	15,05	9,91
14'	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	11,60	2,73	27,27	23,57
15'	3,63	3,19	4,66	1,85	4,82	16,12	8,07	10,15
16'	5,07	27,92	5,10	18,90	8,87	28,61	10,61	29,62
17'	7,53	5,00	9,24	7,99	7,16	14,25	11,89	14,96

Anexo 32 – Valores da média de *S/N* obtidos no método *SIM* para o sistema 1 e 2, para N'= 3.

HPA	10 ppb		20 ppb		30 ppb		40 ppb		50 ppb		\bar{X} <i>S/N</i>		Sistema 3 Sistema 2
	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 2	Sistema 3	
1'	66,33	364,37	105,83	668,71	31,33	1167,55	378,61	1340,33	354,33	1739,7	187,29	1056,13	5,64
2'	130,00	429,32	228,41	777,67	28,69	1156,54	713,07	1368,28	591,67	1898,72	338,37	1126,11	3,33
3'	66,96	305,4	136,50	571,17	34,66	759,6	547,00	1020,95	526,33	1682,93	262,29	868,01	3,31
4'	182,50	570,67	332,60	1111,76	31,57	1483,41	1022,67	2227,36	1063,00	3171,49	526,47	1712,94	3,25
5'	66,36	485,93	169,37	1055,23	34,68	1474,54	675,47	2220,64	606,77	2966,08	310,53	1640,48	5,28
6'	90,86	859,07	231,07	1281,04	33,67	1846,12	842,00	2878,71	876,37	3939,31	414,79	2160,85	5,21
7'	21,54	217,67	84,56	570,67	41,17	668,41	372,67	291,83	336,30	1463,15	171,25	642,35	3,75
8'	46,42	254,87	105,25	489,59	33,35	708,45	385,13	1030,87	369,73	1180,31	187,98	732,82	3,90
9'	119,70	374,21	250,90	785,83	29,52	1124,1	768,27	1745,67	754,23	1915,07	384,52	1188,98	3,09
10'	43,67	353,13	137,23	674,43	36,65	1004,51	664,20	1077,87	541,50	1714,4	284,65	964,87	3,39
11'	90,00	493,1	267,17	880,44	32,53	1301,53	919,40	1861,11	808,63	2310,8	423,55	1369,40	3,23
12'	39,00	150,23	57,28	351,15	34,10	452,25	227,67	605,37	200,43	895,94	111,70	525,95	4,71
13'	43,00	150,47	47,28	363,33	39,40	459,45	177,84	585,57	173,63	910,2	96,23	493,80	5,13
14'	20,36	19,41	18,92	47,58	40,68	7,69	71,53	14,71	71,88	115,37	44,67	40,95	0,92
15'	N.D.	68,43	25,18	102,26	41,78	119,65	54,69	209,93	48,46	212,23	42,53	142,50	3,35
16'	19,24	71,91	24,43	111,62	45,17	143,4	47,19	211,17	45,66	253,13	36,34	158,25	4,35
17'	12,99	91,9	40,15	177,73	38,50	215,5	138,43	174,6	141,47	417,67	74,31	215,48	2,90

Anexo 33 – Valores da média de S/N obtidos no método *SRM* para o sistema 1 e 2, para $N'=3$.

HPA	10 ppb		20 ppb		30 ppb		40 ppb		50 ppb		$\bar{X} S/N$		Sistema 3 Sistema 2
	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 2	Sistema 3	
1'	47,24	327,58	135,25	814,48	268,75	1019,59	331,25	1539,11	765,75	1936,94	309,65	1127,54	3,64
2'	128,00	441,78	327,75	814,48	495,25	1228,19	655,75	1619,71	1038,75	2058,14	529,10	1232,46	2,33
3'	115,31	467,17	327,08	1109,90	709,35	1365,33	787,20	1469,67	1381,95	2675,61	664,18	1417,54	2,13
4'	82,87	252,29	255,50	617,77	445,50	780,70	510,25	991,63	934,20	1298,08	445,66	788,09	1,77
5'	94,97	720,40	362,38	1993,15	786,30	1975,41	974,45	3352,20	1909,00	4410,87	825,42	2490,41	3,02
6'	35,37	490,37	144,50	960,60	352,03	1008,27	516,60	1424,01	1236,00	2216,58	456,90	1219,97	2,67
7'	21,60	74,69	55,25	458,87	1036,78	365,57	184,83	130,59	515,50	828,34	362,79	371,61	1,02
8'	125,29	524,80	395,68	1691,60	692,45	1923,00	1093,00	2553,21	1730,25	3052,33	807,33	1948,99	2,41
9'	294,25	957,23	700,65	3037,49	1044,18	3317,98	1615,73	3861,03	2051,25	6167,64	1141,21	3468,27	3,04
10'	29,25	343,50	107,83	1541,69	245,68	1546,05	605,35	1720,36	1566,50	3423,41	510,92	1715,00	3,36
11'	84,75	660,62	333,98	2350,24	591,58	2627,71	1345,73	3459,09	2717,75	5524,20	1014,76	2924,37	2,88
12'	15,21	84,46	28,51	316,97	63,05	325,15	167,13	475,80	275,70	690,20	109,92	378,52	3,44
13'	15,49	73,09	20,34	283,97	48,01	287,90	122,60	409,30	204,95	583,97	82,28	327,65	3,98
14'	8,19	N.D.	12,91	40,41	19,30	N.D.	43,13	N.D.	85,83	81,18	33,87	60,80	1,79
15'	17,65	244,58	47,00	546,57	129,50	801,30	304,75	1239,07	672,68	1543,00	234,31	874,90	3,73
16'	11,06	89,76	23,00	311,34	49,50	290,93	100,50	496,32	186,93	668,30	74,20	371,33	5,00
17'	28,04	106,14	64,12	268,47	111,11	278,87	193,23	141,90	358,98	316,83	151,09	222,44	1,47

Anexo 34a – Valores da média de S/N obtidos no método *Full-Scan* para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$.

HPA	250 ppb		500 ppb		1000 ppb		2000 ppb	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
1'	16,68	18,85	39,84	44,53	89,94	71,60	162,80	155,40
2'	22,14	26,22	46,83	54,02	89,49	79,87	181,27	186,50
3'	30,31	26,62	62,21	74,69	130,70	135,67	292,13	319,55
4'	40,31	37,89	74,10	106,30	174,85	190,43	370,57	426,20
5'	40,12	39,38	84,36	110,33	175,95	185,03	353,70	458,15
6'	53,98	45,95	113,90	130,40	221,85	225,90	491,90	508,90
7'	47,80	31,73	102,91	111,30	197,70	218,23	458,03	452,65
8'	44,80	41,42	103,78	126,20	222,40	219,13	456,70	552,10
9'	49,29	48,96	112,27	138,97	245,05	241,17	492,30	574,20
10'	32,68	36,61	75,78	76,98	152,60	199,27	347,53	514,60
11'	32,01	36,85	80,78	98,00	170,90	225,93	374,27	544,60
12'	20,18	16,97	52,83	53,19	112,30	154,67	254,63	419,75
13'	19,71	14,39	49,59	51,13	111,10	148,03	249,67	429,65
14'	18,38	9,52	39,07	32,56	91,23	130,90	222,27	353,95
15'	5,40	3,79	18,38	8,08	37,99	45,97	109,78	144,05
16'	9,76	N.D.	16,22	8,01	39,07	45,76	102,19	137,00
17'	9,30	3,71	22,09	12,63	48,93	58,48	120,53	157,70

Anexo 34b – Valores da média de S/N obtidos no método *Full-Scan* para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$.

HPA	5000 ppb		$\bar{X} S/N$		Sistema 3/Sistema 2
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	
1'	406,43	488,17	143,14	155,71	1,09
2'	436,67	525,20	155,28	174,36	1,12
3'	657,63	836,03	234,60	278,51	1,19
4'	825,80	1075,47	297,13	367,26	1,24
5'	940,50	1318,33	318,92	422,25	1,32
6'	1239,67	1512,00	424,26	484,63	1,14
7'	1108,67	1308,67	383,02	424,52	1,11
8'	1143,33	1478,00	394,20	483,37	1,23
9'	1297,33	1645,33	439,25	529,72	1,21
10'	1005,20	1507,33	322,76	466,96	1,45
11'	1094,00	1689,33	350,39	518,94	1,48
12'	700,00	1180,00	227,99	364,92	1,60
13'	764,77	1210,33	238,97	370,71	1,55
14'	666,83	1156,33	207,55	336,65	1,62
15'	342,10	555,40	102,73	151,46	1,47
16'	331,83	533,37	99,81	181,03	1,81
17'	383,10	530,33	116,79	152,57	1,31

Anexo 35a – Valores da média de S/N obtidos no método *SIM* para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$.

HPA	5 ppb		10 ppb		20 ppb		30 ppb		40 ppb	
	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema	Sistema
	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1'	198,40	277,67	364,37	452,33	668,71	1061,00	1167,55	1577,00	1340,33	1723,00
2'	251,07	308,33	429,32	494,00	777,67	1197,00	1156,54	1731,50	1368,28	2147,00
3'	135,83	208,87	305,40	372,03	571,17	883,70	759,60	1450,00	1020,95	1390,50
4'	272,60	374,83	570,67	723,77	1110,76	1718,00	1483,41	2865,50	2227,36	3010,00
5'	235,97	427,40	485,93	892,93	1055,20	1782,00	1474,50	3197,00	2220,67	3780,00
6'	414,97	556,50	859,07	995,20	1281,00	1986,50	1846,00	2771,00	2878,67	2732,50
7'	151,30	240,97	217,67	247,33	570,60	894,20	668,40	982,60	291,83	284,95
8'	115,07	200,87	254,87	354,13	489,60	887,90	708,45	1379,00	1030,87	1784,50
9'	213,70	347,07	374,20	545,97	785,83	1440,00	1124,00	2239,00	1745,67	2825,00
10'	190,53	432,77	353,13	536,87	674,43	1148,00	1004,50	1861,00	1077,87	1886,00
11'	278,23	575,33	493,10	762,87	880,53	1428,50	1301,50	2219,00	1861,00	3299,00
12'	93,09	183,80	150,23	265,70	351,00	477,10	452,25	713,70	605,37	839,15
13'	97,98	190,53	150,47	244,53	363,33	488,40	459,45	718,40	585,57	901,80
14'	23,09	44,45	19,41	19,68	47,58	55,44	7,69	23,65	14,71	22,55
15'	45,33	24,58	68,67	31,51	102,67	48,52	119,55	86,71	209,33	100,45
16'	54,00	35,36	71,33	29,16	111,33	54,95	143,50	98,26	211,67	101,20
17'	70,64	60,57	91,90	58,29	177,73	115,85	215,50	139,75	174,60	97,36

Anexo 35b – Valores da média de S/N obtidos no método *SIM* para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$.

HPA	50 ppb		250 ppb		$\bar{X} S/N$		Sistema 3/Sistema 2
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	
1'	1739,70	3101,67	7127,68	11029,00	1800,96	2745,95	1,52
2'	1898,72	3504,67	6809,96	10504,50	1813,08	2841,00	1,57
3'	1682,93	2818,33	8089,17	14240,00	1795,01	3051,92	1,7
4'	3171,49	5053,33	13296,44	21570,00	3161,82	5045,06	1,6
5'	2966,00	6306,33	15920,00	30045,00	3479,75	6632,95	1,91
6'	3939,33	5168,67	19596,67	29445,00	4402,24	6236,48	1,42
7'	1463,00	1921,67	12022,00	18110,00	2197,83	3240,25	1,47
8'	1180,33	2605,67	6221,67	9977,50	1428,69	2455,65	1,72
9'	1915,00	4047,33	11296,67	13650,00	2493,58	3584,91	1,44
10'	1714,33	3691,00	12193,33	20090,00	2458,30	4235,09	1,72
11'	2310,67	4865,00	13163,33	22405,00	2898,34	5079,24	1,75
12'	896,67	1350,00	4411,00	6336,00	994,23	1452,21	1,46
13'	910,20	1459,00	4507,00	6456,00	1010,57	1494,09	1,48
14'	115,37	167,57	2038,33	1600,50	323,74	276,26	0,85
15'	212,23	173,23	1338,67	960,30	299,49	203,61	0,68
16'	253,13	173,43	1588,67	797,50	347,66	184,27	0,53
17'	417,67	312,03	1184,67	679,60	333,24	209,06	0,63

Anexo 36a – Valores da média de S/N obtidos no método *SRM* para os sistemas 2 e 3, para $N'=3$.

HPA	1 ppb		2 ppb		5 ppb		10 ppb		20 ppb	
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3
	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
1'	66,73	101,06	109,27	167,51	249,67	475,80	327,58	812,50	818,03	1550,50
2'	83,86	124,00	136,86	199,25	324,33	553,63	441,78	793,50	1127,73	1573,50
3'	59,38	107,75	137,40	199,60	306,27	540,43	467,17	924,35	1244,50	1606,00
4'	30,12	70,44	79,66	131,73	165,27	353,47	252,27	679,25	703,65	1165,00
5'	60,39	161,47	148,17	271,50	344,07	1013,23	720,40	1126,00	2226,00	3461,00
6'	25,13	61,41	67,58	136,07	166,10	367,20	490,37	815,55	1083,95	1309,50
7'	9,91	19,13	26,42	41,32	58,62	135,77	74,69	175,85	497,35	564,35
8'	52,02	120,70	112,17	172,43	286,87	560,70	524,80	1051,00	1980,50	2187,50
9'	132,60	294,47	366,30	386,87	712,97	1041,77	957,23	1798,00	3459,00	3707,50
10'	29,65	73,75	63,03	118,33	156,47	411,00	343,50	646,55	1635,50	1822,50
11'	50,80	142,97	148,43	211,67	303,30	662,90	660,63	1039,35	2613,50	2525,50
12'	17,86	28,49	19,55	32,38	50,44	72,33	84,46	125,55	376,75	270,25
13'	22,25	24,70	17,44	32,56	39,64	58,37	73,09	118,45	327,90	252,55
14'	7,80	13,64	7,59	7,35	10,64	13,85	N.D.	5,16	44,29	25,78
15'	21,38	19,19	46,12	19,76	110,23	47,04	244,57	102,00	728,05	221,50
16'	10,23	11,22	17,36	10,53	43,61	17,58	89,76	35,00	361,20	77,00
17'	27,12	24,85	40,50	26,09	89,56	52,12	106,14	54,93	273,45	163,30

Anexo 36b – Valores da média de S/N obtidos no método SRM para os sistemas 2 e 3, para $N^{\circ}=3$.

HPA	30 ppb		40 ppb		50 ppb		$\bar{X} S/N$		Sistema 3/Sistema 2
	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	Sistema 2	Sistema 3	
1'	1019,59	2290,00	1539,33	2896,50	1937,33	4045,00	758,44	1542,36	2,03
2'	1228,19	2451,50	1619,67	2501,50	2058,00	4309,50	877,55	1563,30	1,78
3'	1365,33	2501,50	1469,67	2632,50	2675,67	2246,50	965,67	1344,83	1,39
4'	780,70	1670,50	991,63	1943,50	1298,00	2338,50	537,66	1044,05	1,94
5'	1975,33	4762,00	3352,67	6556,50	4410,33	3449,00	1654,67	2600,09	1,57
6'	1008,50	1831,00	1424,00	2659,00	2216,00	1232,50	810,20	1051,53	1,30
7'	365,57	529,65	130,59	199,30	828,50	356,60	248,96	252,75	1,02
8'	1923,33	3572,00	2553,67	4683,50	3052,33	5276,50	1310,71	2203,04	1,68
9'	3318,67	6214,00	3861,33	5731,00	6167,67	4017,00	2371,97	2898,83	1,22
10'	1546,67	2463,00	1720,33	2986,50	3423,00	4554,00	1114,77	1634,45	1,47
11'	2627,00	3431,00	3459,00	5816,50	5524,00	6012,50	1923,33	2480,30	1,29
12'	325,00	361,70	475,80	714,65	690,20	264,15	255,01	233,69	0,92
13'	287,90	344,80	409,30	645,30	583,97	246,65	220,19	215,42	0,98
14'	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	81,18	19,66	30,30	14,24	0,47
15'	801,30	387,70	1239,67	506,75	1543,00	687,40	591,79	248,92	0,42
16'	290,93	116,00	496,63	142,35	668,30	290,40	247,25	87,51	0,35
17'	278,87	157,05	141,90	91,86	316,83	137,70	159,30	88,49	0,56

Anexo 37 – Tempos de retenção e temperaturas de eluição para cada composto da solução de Grob em 1D-GC-FID.

Nome	RT (min)	Temperatura de eluição (°C)
2,3-butanodiol	1,35	41,40
C ₁₀	5,53	58,12
1-octanol	7,70	66,80
2,6-dimetil-fenol	8,80	71,20
ácido 2-etil-hexanóico	9,80	75,20
2,6-dimetil-anilina	10,66	78,64
C ₁₂	11,65	82,60
metil-decanoato	15,72	98,88
diciclo-hexilamina	18,19	108,76
metil-undecanoato	18,76	111,04
metil-dodecanoato	21,67	122,68

Anexo 38 – Tempos de retenção e temperaturas de eluição para cada hidrocarboneto em 1D-GC-FID.

Hidrocarboneto	# de carbonos	RT (min)	<i>LRI</i>	Temperatura de eluição (°C)
Decano	10	1,19	1000	91,14
Undecano	11	1,82	1100	94,92
Dodecano	12	2,81	1200	100,86
Tridecano	13	4,16	1300	108,96
Tetradecano	14	5,77	1400	118,62
Pentadecano	15	7,50	1500	129,00
Hexadecano	16	9,27	1600	139,62
Heptadecano	17	11,01	1700	150,06
Octadecano	18	12,70	1800	160,20
Nonadecano	19	14,32	1900	169,92
Eicosano	20	15,88	2000	179,28
Heneicosano	21	17,38	2100	188,28
Docosano	22	18,82	2200	196,92
Tricosano	23	20,20	2300	205,20
Tetracosano	24	21,54	2400	213,24
Pentacosano	25	22,81	2500	220,86
Hexacosano	26	24,05	2600	228,30
Heptacosano	27	25,23	2700	235,38
Octacosano	28	26,39	2800	242,34
Nonacosano	29	27,50	2900	249,00
Triacotano	30	28,59	3000	255,54
Hentriacotano	31	29,63	3100	261,78
Dotriacotano	32	30,64	3200	267,84
Tritriacotano	33	31,63	3300	273,78

Anexo 39 – Tempos de retenção, temperaturas de eluição e *LRI*s calculados para cada HPA em 1D-GC-FID.

Nome	RT (min)	<i>LRI calculado</i>	Temperatura de eluição (°C)
Tridecano	4,16	1300	108,96
2-metil-naftaleno	4,37	1313,05	110,22
1-metil-naftaleno	4,62	1328,22	111,72
Tetradecano	5,77	1400	118,62
Acenaftileno	6,79	1459,06	124,74
Acenafteno	7,37	1492,07	128,22
Pentadecano	7,50	1500	129,00
Fluoreno	9,02	1585,77	138,12
Hexadecano	9,27	1600	139,62
Heptadecano	11,01	1700	150,06
Fenantreno	12,34	1778,70	158,04
Antraceno	12,49	1787,85	158,94
Octadecano	12,70	1800	160,20
Eicosano	15,88	2000	179,28
Fluoranteno	16,71	2055,68	184,26
Heneicosano	17,38	2100	188,28
Pireno	17,48	2107,05	188,88
Docosano	18,82	2200	196,92
Tetracosano	21,54	2400	213,24
Benzo(a)antraceno	22,12	2445,76	216,72
Criseno	22,28	2458,32	217,68
Pentacosano	22,81	2500	220,86
Heptacosano	25,23	2700	235,38
Benzo(b)fluoranteno	25,94	2760,72	239,64
Benzo(k)fluoranteno	26,02	2768,27	240,12
Octacosano	26,39	2800	242,34
Benzo(a)pireno	26,96	2851,16	245,76
Nonacosano	27,50	2900	249,00
Hentriacontano	29,63	3100	261,78
Indeno(1,2,3-cd)pireno	30,29	3165,07	265,74
Dibenzo(a,h)antraceno	30,48	3184,21	266,88
Dotriacontano	30,64	3200	267,84
Benzo(g,h,i)perileno	30,95	3231,42	269,70
Tritriacontano	31,63	3300	273,78